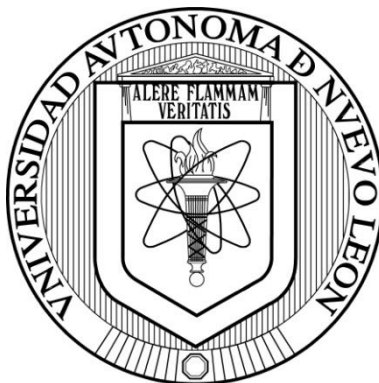


UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
FACULTAD DE AGRONOMÍA
SUBDIRECCIÓN DE ESTUDIOS DE POSTGRADO



**EFFECTO DE LA SUBSTITUCIÓN DE HARINA DE SOYA CON MICELIO DE
PENICILLIUM CHRYSOGENUM EN LA RACIÓN DE CORDEROS, EN EL
DESEMPEÑO, DIGESTIBILIDAD Y FERMENTACIÓN RUMINAL**

Por

FRANCISCO JAVIER PICÓN RUBIO

**Como requisito parcial para obtener el Grado de
DOCTORADO EN CIENCIAS PECUARIAS**

Diciembre, 2008

**EFFECTO DE LA SUBSTITUCIÓN DE HARINA DE SOYA CON MICELIO DE
PENICILLIUM CHRYSOGENUM EN LA RACIÓN DE CORDEROS, EN EL
DESEMPEÑO, DIGESTIBILIDAD Y FERMENTACIÓN RUMINAL**

Aprobación de la Tesis:

Ph. D. Jorge R. Kawas Garza
Asesor Principal

PhD. Humberto Ibarra Gil
Co-asesor

Dr. Fernando Garza Cázares
Co- asesor

Dr. Héctor Fimbres Durazo
Co- asesor

Dr. Rogelio Ledesma Torres
Co-asesor

Dr. Francisco Zavala
Subdirector de Postgrado de la Facultad de Agronomía

TABLA DE CONTENIDO

Capítulo	Página
1. INTRODUCCION	1
2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	3
2.1. La industria de la fermentación	3
2.2. <i>Penicillium chrissogenum</i> y producción de antibióticos.	3
2.3. Micelio, fuente de proteína	6
2.4. Características del micelio	6
2.5. Composición y digestibilidad del micelio	7
2.6. Cultivos fúngicos y de levaduras	8
2.6.1. Hongos	8
2.6.2. Cultivo de levadura	8
2.6.3. Microbiales de uso directo (MUD)	9
2.7. Uso de MUD en la nutrición de rumiantes	10
2.8. La energía en las dietas para ovinos	12
2.9. Proteína unicelular.....	13
2.10. Objetivos	14
2.10.1. Objetivo general	15
2.10.2. Hipótesis.....	15
2.10.3. Metas	15
3. MATERIALES Y MÉTODOS	16
3.1. Instalaciones y equipo	16
3.2. Experimento 1 (Prueba de desempeño)	16
3.2.1. Características de los animales y diseño experimental	16
3.2.2. Manejo de los animales	17
3.2.3. Preparación y manejo de la alimentación.....	17
3.2.4. Colección de muestras y registro de datos	17
3.2.5. Análisis de muestras	18
3.2.6. Matanza de los ovinos	20
3.2.7. Procedimiento de clasificación de canales	20
3.2.8. Análisis estadístico	21
3.3. Experimento 2 (Prueba de digestibilidad y fermentación	22
ruminal)	22
3.3.1. Instalaciones para la investigación	22
3.3.2. Animales y tratamientos.....	22
3.3.3. Alojamiento y manejo de los animales	22
3.3.4. Alimentación durante la prueba	23

3.3.5.	Manejo de los corderos	23
3.3.6.	Obtención de muestras.	24
3.3.7.	Actividades de masticación	24
3.3.8.	Análisis de muestras.	24
3.3.9.	Análisis estadístico	25
3.4.	Experimento 3 (Utilización de la energía)	26
3.4.1.	Animales y tratamientos	26
3.4.2.	Análisis de muestras.	26
3.4.3.	Análisis estadístico	27
4.	RESULTADOS	28
4.1.	Experimento 1 (Prueba de desempeño)	28
4.1.1.	Composición química del micelio	28
4.1.2.	Desempeño de los corderos.	28
4.1.3.	Peso y rendimiento de la canal.	30
4.1.4.	Calidad de la canal.	33
4.1.5.	Medidas de conformación y tamaño de los órganos.	33
4.2.	Experimento 2 (Prueba de digestibilidad y fermentación ruminal)	33
4.2.1.	Digestibilidad de la materia seca	33
4.2.2.	Efecto sobre la digestibilidad de la pared celular	40
4.2.3.	Efecto sobre la digestibilidad de los carbohidratos no fibrosos	46
4.2.4.	Efecto sobre la retención de nitrógeno.	46
4.2.5.	Efecto sobre el pH y producción de ácidos grasos volátiles.	47
4.3.	Experimento 3 (Utilización de la energía)	47
4.3.1.	Consumo y excreción de energía	47
4.3.2.	Energía digestible y metabolizable.	53
5.	DISCUSIÓN	57
5.1.	Experimento 1 (prueba de desempeño).	58
5.1.1.	Consumo de materia seca, ganancia diaria de peso y conversión alimenticia	58
5.1.2.	Tamaño de órganos	59
5.1.3.	Rendimientos y calidad de la canal.	60
5.2.	Experimento 2 (Prueba de digestibilidad y fermentación ruminal).	60
5.2.1.	Consumo y digestibilidad	60
5.2.2.	Balance y retención de nitrógeno.	61
5.2.3.	Producción de ácidos grasos volátiles y pH del rumen	61
5.3.	Experimento 3 (Utilización de la energía).	62

6. CONCLUSIONES	63
7. BIBLIOGRAFÍA	64
8. ANEXOS	73

LISTA DE TABLAS

Tabla	Página
1. Composición de los alimentos para ovinos con varios niveles de micelio en la ración.	19
2. Composición química del micelio de <i>Penicillium chrisogenum</i>	29
3. Consumo, ganancia de peso y eficiencia alimenticia de corderos consumiendo varios niveles de micelio en raciones de engorda. . .	31
4. Peso y rendimiento de la canal en caliente y frío de corderos alimentados con varios niveles de micelio en raciones de engorda.	32
5. Efecto del nivel de micelio sobre las características de la canal de borregos consumiendo dietas para corral de engorda	34
6. Desarrollo corporal y tamaño de los órganos de corderos consumiendo dietas con varios niveles de micelio.	35
7. Influencia del nivel de micelio sobre el consumo de materia seca y tiempos de masticación en ovinos en raciones de engorda	36
8. Influencia del nivel de micelio sobre la digestibilidad de la fibra detergente neutro (FDN) en ovinos de engorda en corral	41
9. Influencia del nivel de micelio sobre la digestibilidad de carbohidratos no fibrosos (CNF) en ovinos de engorda en corral	43
10. Influencia del nivel de micelio sobre el balance de nitrógeno (N) en ovinos consumiendo dietas de corral de engorda	48
11. Efecto del nivel de micelio en la ración de corderos de engorda, sobre el pH y la producción de ácidos grasos volátiles en el rumen	50
12. Efecto de la dieta con varios niveles de micelio sobre el uso de la energía por ovinos en finalización	54

LISTA DE FIGURAS

Figura	Página
1. Influencia del nivel de micelio sobre el consumo de materia seca, en dietas para ovinos en corral	37
2. Efecto del nivel de micelio sobre el consumo de materia seca en gramos por kg de peso metabólico	38
3. Efecto del nivel de micelio sobre el consumo, rumia y masticación total de ovinos en corral.	39
4. Influencia del nivel de micelio en FDN consumido y digerido en las raciones para ovinos en engorda.	42
5. Influencia del nivel de micelio sobre el consumo y digestión de carbohidratos no fibrosos, en dietas para ovinos en corral de engorda.	44
6. Digestibilidad de los CNF de las dietas con diferentes niveles de micelio, en ovinos en corral	45
7. Digestibilidad aparente y verdadera del nitrógeno de raciones con diferentes niveles de micelio, en ovinos en finalización.	49
8. Efecto del nivel de micelio sobre el porcentaje molar de acetato, propionato y butirato en dietas para ovinos en corral	51
9. Influencia del nivel de micelio sobre el pH del líquido ruminal de ovinos alimentados con raciones para engorda.	52
10. Influencia del nivel de micelio sobre la energía consumida y excretada por ovinos en finalización	55
11. Efecto del nivel de micelio en la ración sobre la eficiencia de la Energía metabolizable, en ovinos en corral.....	56

NOMENCLATURA

AGV's	Acidos Grasos Volátiles
AO	<i>Aspergillus oryzae</i>
CA	Conversión alimenticia
CMS	Consumo de Materia Seca
CNF	Carbohidratos no fibrosos
DMS	Digestibilidad de la materia seca
ED	Energía digestible
EM	Energía metabolizable
FC	Fibra Cruda
FDN	Fibra Detergente Neutro
G	Gramos
GDP	Ganancia Diaria de Peso
Kg	Kilogramos
Kg ^{0.75}	Kilogramos ajustados por peso metabolico
Mcal	Mega calorías
MI	Mililitro
Mmol	milimoles
PC	Proteína cruda
pH	Potencial Hidrogeno
RPC	Grasa de Riñón, pelvis y corazón
SC	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>

AGRADECIMIENTOS

Hago notorio mi agradecimiento sincero y quiero reconocer la voluntad del PhD. Jorge R. Kawas Garza como asesor, gran profesor e incansable guía, durante el desarrollo de mis estudios, así como en la preparación de esta tesis.

Así mismo, también deseo agradecer al PhD. Humberto Ibarra Gil, Dr. Héctor Fimbres Durazo, Dr. Fernando Garza Cázares y Dr. Rogelio Ledesma Torres por su interés en la revisión de esta tesis como miembros del comité de tesis. Todos sus comentarios, sugerencias y críticas a mi trabajo, fueron muy importantes para un mejor planteamiento en la redacción y estructuración de la tesis.

A todos mis compañeros del laboratorio de Nutrición y Metabolismo, el MC Eduardo B. Pérez Medina, y el MVZ Carlos Reyes de Anda.

DEDICATORIA

El trabajo aquí escrito lo dedico a:

Nunca en mi vida le he mostrado agradecimiento a nadie antes que a DIOS;
GRACIAS por tanta benevolencia.

A Carlota Eugenia, Esposa Amada, *por el amor que me ha dado y por
estimularme siempre.*

A Víctor Manuel, Verónica Iveth, Francisco Javier, Adolfo Antonio,
porque son los mejores hijos. Los amo mucho.

A mi padre y a mi madre, *por guiarme en mi vida y durante mi
formación.*

Víctor Manuel y Maria Guadalupe, *muchas gracias.*

Anexos

GLOSARIO

Acido acético – Uno de los ácidos grasos volátiles del fluido ruminal que tiene la fórmula CH_3COOH .

Ácido graso volátil – Es cualquiera de los diversos ácidos orgánicos volátiles que se encuentran principalmente en el contenido ruminal y/o el ensilaje. Los de mayor importancia son el acetato, propionato y butirato.

Aminoácido – Denominación que reciben ciertos ácidos orgánicos, algunos de los cuales son los componentes básicos de las proteínas de origen vegetal o animal. La molécula de los aminoácidos contiene, al menos, un grupo amino y un grupo carboxilo.

Balance de nitrógeno – Es el estado de pérdida o retención, o equilibrio actual de nitrógeno en el organismo, pudiendo ser negativo si el consumo de N es mayor a la pérdida, o positivo, si la excreción de N es mayor al N consumido. El balance de N, en gramos por día, es igual a N consumido menos la excreción de N en heces y orina.

Beta glucanos – Son polisacáridos que ocurren en el salvado de granos de cereales, la pared celular de la levadura de panadería, en ciertos tipos de hongos, y muchos tipos de champiñones.

Carbohidratos no-fibrosos (CNF) – Representan a los carbohidratos no-estructurales como el almidón o los azúcares. Los CNF se calculan con la siguiente fórmula:
$$\text{CNF (\%)} = \text{MS} - (\text{PC} + \text{EE} + \text{FDN} + \text{Cenizas}).$$

Conversión alimenticia – Es la eficiencia con la cual se utiliza el alimento para ganar peso vivo, o peso libre de digesta. La conversión alimenticia se expresa como kg de alimento o materia seca (MS).

Digestibilidad aparente de la proteína – Es el consumo de proteína cruda en la dieta menos la proteína excretada en heces, y se expresa como porcentaje de la proteína consumida. La digestibilidad aparente subestima la digestibilidad de la proteína debido a que no considera la excreción de N endógeno o microbiano.

Digestibilidad verdadera – Es igual a la proteína consumida menos la proteína en heces, restándole el nitrógeno metabólico fecal, el cual incluye la pérdida endógena de N y proteína microbiana.

Energía bruta – Es el calor de combustión total de un material que ha sido determinado por medio del empleo de una bomba calorimétrica.

Energía digestible – La parte de la energía bruta de una materia prima o de un alimento que no aparece en las heces.

Energía metabolizable – Es la energía consumida menos las pérdidas de energía en heces, orina y gases de la fermentación ruminal.

Fibra en detergente neutro (FDN) – Es la porción de la muestra de alimento que es insoluble en una solución detergente neutro, y representa a la pared celular de las células vegetales. Esta entidad química está compuesta principalmente por celulosa, hemicelulosa, lignina y sílice. La FDN tiene una relación inversa con el consumo voluntario de MS.

Ganancia diaria de peso – Es el aumento diario de peso, medido en gramos o kilogramos.

Levadura – Nombre común de diversos hongos ascomicetos unicelulares que se reproducen por gemación o división y producen enzimas que provocan la fermentación alcohólica de los hidratos de carbono.

Micelio – Aparato vegetativo de los hongos que constituye su talo, formado por filamentos muy ramificados. El desarrollo de las hifas forma el micelio.

Nitrógeno retenido – Es el balance de N expresado como porcentaje del N consumido.

Penicillium chrysogenum – Antes llamado *Penicillium notatum*, es el hongo del que se obtuvo el antibiótico penicilina.

Proteína – Es cualquiera de los muchos compuestos orgánicos nitrogenados de estructura compleja que se forman por la variada combinación de diferentes aminoácidos.

Proteína cruda – Nitrógeno amoniacal total por 6.2S, basado en el hecho de que la proteína de los alimentos posee en promedio 16% de nitrógeno.

Saccharomyces cerevisiae – Pertenecce al género *Saccharomyces* que incluye muchos tipos diferentes de levaduras y forma parte del reino de los hongos.

Subproducto – Producto que se obtiene en un proceso de elaboración, fabricación o extracción de otro producto que tiene más valor.

Valor biológico – La eficiencia con la cual una proteína aporta las cantidades y proporciones adecuadas de los diversos aminoácidos esenciales. Una proteína que tiene un alto valor biológico, es considerada como de buena calidad.

17/sep/2008

A quien corresponda :

De acuerdo a los distintos análisis de Penicilina residual en Micelio y después de 36 horas de almacenaje en tanque (según el procedimiento interno de disposición) , la cuantificación es de 0 u/g, con un límite de detección de 100ppm (160 u/g), por el método de Cromatografía de líquidos utilizando columna C18 de 5 micras. Este resultado se confirma ya que el cromatograma no presenta ningún pico en relación al tiempo de retención del estándar de penicilina utilizado.

Sin otro particular por el momento y en espera de sus comentarios:

Saludos

Biol. José Gerardo Rodríguez Sucedo
Superintendente Procesos Microbiológicos
DSM Anti-infectives / Fersinsa.

BIBLIOGRAFIA

- Adams, D.C., Galyean, M.L., Kiesling, H.E., Wallace, J.D. and Finkner, M.N. 1981. Influence of viable yeast culture, sodium bicarbonate and monensin on liquid dilution rate, rumen fermentation and feed lot performance of growing steers and digestibility in rams. *J. Anim. Sci.* 53 (3):780-789.
- Andrease, A. A., and T. J. Stier, 1956. Anaerobic nutrition of *Saccharomyces cerevisiae*. III and unidentified growth promoting factor and its relationships to the essential lipid requirements. *J. Cell. Physiol.* 48(2): 317-328
- AOAC. 1997. Official Methods of Analysis (16th ed.). Association of Official Analytical Chemists, Arlington, VA., USA.
- Ayala, O.J., González, S.S., Herrera, R., Bárcena, R. and Mendoza, G.D. 1992. Effect of a probiotic and a molasses-urea supplement on fiber digestibility of sesame straw. *J. Anim. Sci.* 70 (Suppl. 1):307.
- Beuchat L.R., 1987. Food and Beverage Mycology. 2a. Ed. Van Nostrand Reinhold, New York.
- Bringmann, G. and T. Mader. 1995. In vivo formation of diazepam-like 1,4-benzodiazepines by *Penicillium verrucosum* var. *verrucosum* after administration of 2-aminobenzophenones and glycine. *J. Neural Transm.* 101:169-181.
- Bruna J.M., M. Fernandez, J.A. Ordoñez and L. de la Hoz. 2002. Enhancement of the flavour development of dry fermented sausages by using a protease (Pronase E) and a cell-free-extract of *Penicillium camemberti*. *J. Sci. Food Agric.* 82:526-533.
- Dabbah, R., 1970. Protein from microorganisms. *Food Technology* 24:259-664.

- Dawson, K.A., K. E. Newman, and J. A. Boling. 1990. Effects of microbial supplements containing yeast and lactobacilli on roughage-fed ruminal microbial activities. *J. Anim. Sci.* 68:3393-3398.
- Doctor, V. M., and L. Kerur. 1968. Penicillium mycelium waste as protein supplement in animals. *Applied Microbiology* 16 (11):1723-1726.
- El Hassan, S.M., C.J. Newbold, I.E. Edwards, J.H. Topps, and R.J. Wallace. 1996. Effect of yeast culture on rumen fermentation, microbial protein flow from the rumen and live-weight gain in bulls given high cereal diets. *Anim. Sci.* 62:43-48.
- Erasmus, L.J., P.M. Botha, and A. Kistner. 1992. Effect of yeast culture supplement on production, rumen fermentation, and duodenal nitrogen flow in dairy cows. *J. Dairy. Sci.* 75:3056-3065.
- Flores, R.E., B.M.V. García, R.A. Aquiahuatl y C.G. Saucedo. 1995. Aislamiento de cepas de hongos filamentosos a partir de la copra. *Productos Naturales Vol. 2. Perspectivas Biotecnológicas. UAM Iztapalapa.*
- Flores N. M. y R. F. Pérez-Gil, 2002. Microbianos para la alimentación directa en dietas para rumiantes: Una revisión. *Agropecus, Rev. de Ciencia Biodiversidad y Tecnología Agropecuaria. UNAM, México. Vol 1 (1): 26-40.*
- Fimbres, D. H. 2000. Efecto del nivel de fibra en la ración de corderos de engorda, sobre el desempeño, digestión y parámetros ruminales. Tesis Doctoral. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UANL. Monterrey, Nuevo León.
- Fimbres, H., G. Hernández-Vidal, J. F. Picón-Rubio, J. R. Kawas, C. D. Lu., 2002a. Productive performance and carcass characteristics of lambs fed ration containing various forage levels. *Small Ruminant Research* 43: 282 – 288.

- Fimbres, H., J. R. Kavas, G. Hernández-Vidal, J. F. Picón-Rubio, C. D. Lu., 2002b. Nutrient intake, digestibility, mastication and ruminal fermentation of lambs fed finishing ration with various forage levels. *Small Ruminant Research*.43:275 – 281.
- Fluharty, F. L. y K. E. McClure. 1997. Effects of dietary energy intake and protein concentration on performance and visceral organ mass in lambs. *J. Anim. Sci.* 75:604-610.
- Fondevila, M., C.J. Newbold, P.M. Hotten, and E.R. Ørskov. 1990. A note on the effect of *Aspergillus oryzae* fermentation extract on the rumen fermentation of sheep given straw. *Anim. Prod.* 51:422-425.
- Frisvad J.C. and U. Thrane, 1996. Mycotoxin production by food-borne fungi. In: Introduction to food borne fungi. 5a. Ed. Ed: R. A. Samson, E. S. Hoekstra, J. C. Frisvad, and O. Filtenborg. CBS, Baarn, Holand. Pp. 251-260.
- Frumholtz, P.P., C.J. Newbold, and R.J. Wallace. 1989. Influence of *Aspergillus oryzae* fermentation extract on the fermentation of a basal ration en the rumen simulation technique (RUSITEC). *J. Agric. Sci. Camb.* 113:169-172.
- Gareis M., R. Rotheneder, and W. Rödel. 1999. Mould ripened meat products: new selection scheme for non toxigenic *Penicillium* spp. *Micotoxin Res.* 15: 61-66.
- Garret, W.N. 1980. Factors influencing energetic efficiency Beef production. *J. Anim. Sci.* 51:1434-1440.
- Gasa J., C. Castrillo, M. D. Baucells, J.A. Guada. 1989. By-products form canning industry as feedstuff for ruminants: Digestibility and its prediction from chemical composition and laboratory bioassays. *Anim. Feed Sci. Technol.* 25:67-77.

- Giger-Reverdin, S., N. Bezault, D. Sauvant and G. Bertin. 1996. Effects of a probiotic yeast in lactating ruminants. Interaction with dietary nitrogen level. *Anim. Feed Sci. Technol.* 63:149-162.
- Goering, H.K. and P.J. Van Soest. 1970. Forage fiber analysis (apparatus, reagents, procedures and some applications). Pp. 1-20. In *Agricultural Handbook number 397*. Washington D. C. Agricultural Research Service, USDA.
- Goestch, A.L. and M.L. Galyean. 1983. Influence of feeding frequency on passage fluid and particulate markers in steers fed a concentrate diet. *Canadian Journal of Anim. Sci.* 63:727-730.
- Gómez-Alarcón, R., F. Wiersma, D. Ammon, G.E. Higginbotham and J.T. Huber. 1988. Effect of feeding Amaferm (*Aspergillus oryzae* extract) to cows in early lactation on milk yields and related parameters. *J. Dairy Sci.* 71 (Suppl. 1):219.
- Geisen, R. 1993. Fungal starter cultures for fermented foods: molecular aspects. *Trends Food Sci. Tech.* 4:251-256.
- Hadjipanayiotou, M., I. Antoniou, and A. Photiou. 1997. Effects of the inclusion of yeast culture on the performance of dairy ewes and goats and the degradation of feedstuffs. *Livestock Prod. Sci.* 48:129-134.
- Harris, L.E. 1970. *Nutrition Research Techniques for domestic and wild animals*. L. E. Harris, 1408 Highland drive, Logan, UT.
- Helbig, F., J. Steighardt and W. Ross. 2002. Uric acid is a genuine metabolite of *Penicillium cyclopium* and stimulates the expression of alkaloid biosynthesis in this fungus. *Appl. Environ. Microb.* 68:1524-1533.

- Higginbotham, G.C., C.A. Collar, M.S. Aseltine and D.L. Bath. 1994. Effect of yeast culture and *Aspergillus oryzae* extract on milk yield in a commercial Dairy Herd. *J. Dairy Sci.* 77:343-348.
- Hosobuchi M., K. Ogawa and H. Yoshikawa. 1993. Morphology study in production of ML – 236B, a precursor of pravastatin sodium, *Penicillium citrinum*. *J. Ferment. Bioeng.* 76:470-475.
- Igarashi, Y., A. Sekine, H. Fukazawa, Y. Uehara, K. Yamaguchi, Y. Endo, T. Okuda, T. Furumai, and T. Oki. 2002. Anicequol, a novel inhibitor for anchorage-independent growth of tumor cells from *Penicillium aurantiogriseum* Dierckx TP-F0213. *J. Antibiot.* 55:371-376.
- Kawas, J.; R. García-Castillo, H. Fimbres-Durazo, F. Garza-Cazares, J. Hernández-Vidal, E. Olivares-Sáenz, C. Lu, 2007. Effects of sodium bicarbonate and yeast on nutrient intake, digestibility, and ruminal fermentation of light-weight lambs fed finishing diets. *Small Ruminant Research*: 67 (2), 149-156
- Kellems, R.O., A. Lagerstedt and M.V. Wallentine. 1990. Effect of feeding *Aspergillus oryzae* fermentation extract or *Aspergillus oryzae* plus yeast culture plus mineral and vitamin supplement on performance of Holstein cows during a complete lactation. *J. Dairy Sci.* 73: 2922-2928.
- Koloman, B., 1990. Nonconventional Feedstuffs in the Nutrition of Farm Animals. *Developments in Animal and Veterinary Science*, 23. Elsevier, Cz.
- López-Díaz, T.M., J.A. Santos, M.L. García-López, and A. Otero, 2001. Surface mycoflora of a Spanish fermented meta sausage and toxigenicity of *Penicillium* isolates. *Intern. J. Food Microbiol.* 68:69-74.

- Malcolm, K.J. and H.E. Kiesling. 1990. Effects of whole cottonseed and live yeast culture on ruminal fermentation and fluid passage rate in steers. J. Anim. Sci. 68:1965-1970.
- Meat Evaluation Handbook, 1992. United States Standards for grades of lamb, yearling mutton, and mutton carcasses. United States Department of Agriculture, Agricultural Marketing Service. Livestock and seed Division pp. 1-14.
- Monzoni, M., and M. Rollini. 2002. Biosynthesis and biotechnological production of statins by filamentous fungi and application of these cholesterol-lowering drugs. Appl. Microbiol. Biot. 45:1486-1490.
- Martin, A., M.A. Asencio, M.E. Bermúdez, M.G. Córdova, E. Aranda, and J.J. Córdova. 2002. Proteolytic activity of *Penicillium chrysogenum* and *Debaryomyces hansenii* during controlled ripening of pork loins. Meat Sci. 62:129-137.
- Montiel, G.M.A. 1998. Utilización de bacterias lácticas en la conservación de subproductos de flor de cempasúchil (*Tagetes erecta*) para la alimentación de rumiantes. Tecnológico de Estudios Superiores de Ecatepec.
- Newbold, C.J., N. McKain, and R.J. Wallace. 1993. Combined effects of *Aspergillus oryzae* fermentation extract and monensin on fermentation in the rumen simulation technique (Rusitec). J. Agric. Sci. Camb. 121:241-246.
- Nisbet, D.J., and S. A. Martin. 1990. Effect of dicarboxylic acids and *Aspergillus oryzae* fermentation extract on lactate uptake by the ruminal bacterium *Selenomonas ruminantium*. Appl. Environ. Microbiol. 56:3515-3518.
- Nisbet, D.J., and S. A. Martin. 1993. Effects of fumarate, L-malate, and *Aspergillus oryzae* fermentation extract on D-lactate utilization by the ruminal bacterium *Selenomonas ruminantium*. Curr. Microbiol. 26:133.

- NRC. 1983. Underutilized Resources as Animal Feedstuffs. National Research Council. National Academy Press. Washington, D. C.
- NRC. 1985. Nutrient Requirements of Sheep. Nutrient requirements of Domestic Animals. National Research Council. National Academy Press. Washington, D.C.
- NRC, 2007. (National Research Council). Nutrient requirements of small ruminants: sheep, goats, cervids, and new world camelids. Washington, DC, USA. National Academy Press.
- Pathak, S. G., and R. Seshadri. 1965. Use of *Penicillium chrysogenum* mycelium as animal food. Appl. Microbiol. 18:262-266.
- Paul, G.C. and C.R. Thomas. 1996. A structured model for hyphal differentiation and penicillin production using *Penicillium chrysogenum*. Biotechnol. Bioeng. 51:558-572.
- Pera, L.M., M.D. Baigorí, and D. Callieri. 1999. Influence of environmental conditions on hyphal morphology in pellets of *Aspergillus niger*: Role of (-N-Acetyl-D-Glucosaminidase. Current Microbiol. 39:65-67.
- Petit, H. V., G. F. Tremblay and P. Savoie. 1997. Performance of growing lambs fed two levels of concentrate with conventional or macerated timothy hay. J. Anim. Sci. 75:598-603.
- Pitt, J.I. 1979. The genus *Penicillium* and its teleomorphic states *Eupenicillium* and *Talaromyces*. Academic Press, New York.
- Rouzbehan, Y., H. Galbraith, J.A. Rooke, and J.G. Perrott. 1994. A note on the effects of dietary inclusion of a yeast culture on growth and ruminal Metabolism of lambs given diets containing unground pelleted molasses dried sugar-beet pulp and barley in various proportions. Anim. Prod. 59:147-150.

- Smith, L.W. 1973. Nutritive evaluations of animal manures. *In* Processing Agricultural and Municipal wastes. G.E. Inglett (Ed.) AVI Publishing Co., Westport, Conn., p. 55–74.
- Steel, R.G.D., and J.H. Torrie. 1980. Principles and Procedures of Statistics. A Biometrical Approach. Second ed. McGraw-Hill Book Co. New York, USA.
- Tapia, I.N.M., M.S. González, y R. Herrera-Saldaña. 1991. Efecto de cinco probióticos en la digestibilidad in vitro e in situ de algunos nutrientes. *Agrociencia (Serie Ciencia Animal)* 1(1): 99-116.
- Tapia, M. N. and Herrera-Saldaña, R. 1989. The effect of four fungal compounds as probiotics on in vitro dry matter disappearance of different feedstuffs. *J. Anim. Sci.* 67; suppl. 1: 521.
- U.S. Tariff Commission. 1970. Synthetic Organic Chemicals. United States Production and Sales. TC Publication 327. Washington, D.C.: U.S. Government Printing Office.
- Varel, V.H., K.K. Kreikemeier, H.J.G. Jung, and R.D. Hatfield. 1993. In vitro stimulation of forage fiber degradation by ruminal microorganisms with *Aspergillus oryzae* fermentation extract. *Appl. Environ. Microbiol.* 59 (10):3171-3176.
- Van Gulik, W.M., M.R. Antoniewicz, W.T.A.M. deLaat, J.L. Vinke, and J.J. Heijnen. 2000. Energetics of growth and penicillin production in a high-producing strain of *Penicillium chrysogenum*. *Biotechnol. Bioeng.* 72:185-193.
- Wallace, R.J. 1994. Ruminal microbiology, biotechnology and ruminant nutrition: Progress and Problems. *J. Anim. Sci.* 72:2992-3003.
- Wallace, R. J. and C. J., Newbold, 1992. Probiotics for ruminants. En: Fuller, R., editor. *Probiotics: The Scientific basis*. Chapman and Hall, London, p. 317-325.

- Wallace, R.J. 1996. The mode of action of yeast culture in modifying rumen fermentation. En: Biotechnology in the Feed Industry. K. A. Jacques, editors. Alltech Technical Publications. Nicholasville, Ken., USA.; p. 217-232.
- Webster, A.J.F. 1978. The Management and Disease of sheep, pp. 166-174. Slough: Commonwealth Agricultural Bureau.
- Welch, R.P. and Calza, R.E. 1993. AmafermTM stimulates the growth of the rumen fungus *Neocallimastix frontalis* EB188. J. Anim. Sci. 71 (Suppl. 1):280.
- Wells, B. and R. Mason. 1976. Yeast culture and probiotic for feedlot lambs. J. Anim. Sci. 43 (Suppl. 1):337.
- Yoon, I.K. and Stern, M.D. 1996. Effects of *Saccharomyces cerevisiae* and *Aspergillus oryzae* cultures on ruminal fermentation in dairy cows. J. Dairy Sci. 79:411-417.

CAPITULO I

INTRODUCCIÓN

Grandes cantidades de subproductos del área agroindustrial son utilizadas en las dietas para rumiantes (Gasa et al, 1989). La composición química y valor nutritivo de muchos de estos subproductos, o coproducidos, ha sido publicada (NRC, 1983; 2007). Sin embargo, existen muy poca información publicada con respecto al valor nutritivo del micelio de organismos productores de antibióticos (Doctor y Kerur, 1968; Pathak and Seshadri, 1965), principalmente debido al bajo incentivo de la industria para el desarrollo de un mercado de alimentos para animales, de su desperdicio de micelio (NRC, 1983).

Fersinsa, una empresa de origen Holandés, la segunda empresa mas grande con respecto a la producción de penicilina y derivados, se localiza en Ramos Arispe, Coahuila. Esta empresa desecha de 90 a 120 toneladas de micelio húmedo, diariamente. Nuevo León es receptor de este tipo de subproductos, que pueden contaminar el ambiente, si no se desechan apropiadamente.

Una de las limitaciones del uso de hongos y otros organismos miceliales en la alimentación animal es el problema de su digestibilidad. La digestión de la pared celular es difícil de desdoblar, ya que esta contiene una mezcla de polímeros que incluyen quitinas, β glucanos, lamarinas y péptidos, los cuales, muchos de ellos, tienen enlaces cruzados (NRC, 1983).

La utilización del desperdicio de antibióticos ha sido examinada mediante su mezclado con otros alimentos para animales. Sin embargo, existe un

problema de palatabilidad (Doctor y Kerur, 1968). Además, otra preocupación ha sido la presencia de residuos de antibióticos. Es importante que estos desperdicios no contengan residuos de antibiótico, especialmente aquellos destinados para uso humano como la penicilina y sus derivados. Si esto no se considera, se tendrán procesos de selección que favorezcan la resistencia de los microorganismos a estos medicamentos (Smith, 1973). Consecuentemente, es importante remover las trazas de antibiótico del micelio, para que este subproducto se pueda usar para consumo animal (NRC, 1983).

CAPITULO II

REVISION BIBLIOGRAFICA

2.1. La industria de la fermentación

La industria de la fermentación puede ser dividida en tres categorías principales: (1) antibióticos y otros compuestos terapéuticos; (2) compuestos químicos catalíticos (enzimas); y (3) bebidas como el vino, la cerveza y los destilados. La industria de los antibióticos producía hasta 20,000 toneladas de antibióticos en 1970 (U.S. Tariff Commission, 1970). Los mayores desechos de las fermentaciones de antibióticos son de penicilina, cefalosporina, tetraciclina, eritromicina, y los aminoglicósidos. El desecho principal de esta industria es el micelio.

2.2. *Penicillium chrysogenum* y producción de antibiótico

Las especies que incluye el género *Penicillium* son ubicuas, de amplia distribución por todo el mundo y consideradas saprófitas. Muchas de ellas viven en el suelo o en materia orgánica en descomposición (Pitt, 1979).

El más importante y mayor uso industrial de *Penicillium* spp ha sido la producción de penicilina. El descubrimiento de este metabolito de *P. notatum* (en la actualidad *P. chrysogenum*) por Alexander Fleming fue en 1928 (Pitt, 1979). El estudio del género aumentó en años posteriores en busca de cepas que presentaran una gran producción de penicilina y en busca de nuevos antibióticos (Pitt, 1979). Ningún otro metabolito aislado en la época, sin embargo, presentó

actividad contra bacterias sin presentar toxicidad para el hombre. El uso de la penicilina como agente terapéutico comenzó a llevarse a cabo en los años 40. A partir de entonces, y hasta la actualidad, se han utilizado cepas de esta especie en procesos industriales para producir el antibiótico (Pitt, 1979). El estudio del metabolismo de la producción de penicilina todavía es motivo de investigación (Paul y Thomas, 1996; Van Gulik et al., 2000). Recientemente, la especie *P. nalgiovense*, considerada como una forma domesticada de *P. chrysogenum*, también posee capacidad de producir penicilina (Pitt, 1979). En este caso, se utiliza como cultivo iniciador en la producción de embutidos. La producción de antibióticos, como sucede con la de micotoxinas, ha de ser evitada en cualquier tipo de alimentos (Frisvad y Thrane, 1996).

Algunas *Penicillium* spp son utilizadas para la elaboración de quesos. Las especies utilizadas con este fin son *P. roqueforti* para la producción de queso Roquefort y quesos azules, y *P. camemberti* para la de Camembert y similares. Debido a la producción de enzimas lipo y proteolíticos, el crecimiento del hongo aporta al queso textura característica. El aroma y sabor se deben a los ácidos grasos libres producto de la lipólisis, a los productos obtenidos de la proteólisis y a la formación de otros compuestos aromáticos, entre los que destacan cetonas y alcoholes (Beuchat, 1987). *Penicillium* spp. Son utilizados también como cultivos iniciadores en la producción de derivados cárnicos, sobretudo en productos fermentados y desecados como salchichones y chorizos. Este uso se reserva básicamente a las especies *P. nalgiovense* y *P. chrysogenum* (Geisen, 1993; López-Díaz et al., 2001; Martín et al., 2002). Como en el caso de la

producción de quesos, la difusión en el embutido de enzimas lipo y proteolíticos, hace mejorar sus características organolépticas (Bruna et al., 2002; Gareis et al., 1999; Geisen, 1993; López-Díaz et al., 2001; Martin et al., 2002). En países orientales, de África y América del Sur, se elaboran productos fermentados a partir de cereales que utilizan *Penicillium* spp., entre otras, como fermento natural. El producto obtenido es denominado koji como término general, y este puede ser utilizado a su vez como fermento iniciador en la elaboración de otros productos tradicionales (Beuchat, 1987). Las especies del género *Penicillium* son también utilizadas industrialmente para la obtención de enzimas, principalmente pectinasas, glucoasa oxidasa y catalasa (Beuchat, 1987).

Las especies del género *Penicillium*, así como sucede en otros géneros de hongos microscópicos, comparten muchas rutas metabólicas con animales y plantas y poseen la capacidad de sintetizar metabolitos muy complejos, como las benzodiacepinas (Bringmann y Mader, 1995; Helbig et al., 2002). Muchos de estos metabolitos son similares a moléculas presentes en organismos superiores y algunos son utilizados como fármacos. Un estudio reciente cita la detección de un compuesto de *P. aurantiogriseum* que es capaz de inhibir el crecimiento de células de cáncer de colon humanas (Igarashi et al., 2002). La especie *P. citrinum* puede sintetizar un precursor de la pravastatina, fármaco utilizado como tratamiento para la hipercolesterolemia (Hosobuchi et al., 1993; Manzoni y Rollini, 2002). Las estatinas se obtienen de forma natural, semisintética o totalmente sintética y son moléculas capaces de inhibir la síntesis de colesterol endógeno (Manzoni y Rollini, 2002).

2.3. Micelio, fuente de proteína

El micelio, un residuo fúngico de la manufacturación de antibióticos, que generalmente se desecha, es una fuente potencial de proteína que puede variar de 30 a 60% de la MS, dependiendo de la procedencia, pudiéndose emplear en la alimentación de rumiantes (Dabbah, 1970).

La biomasa producida por el micelio, puede ser secada para producir polvo o gránulos, o puede ser usada fresca en la alimentación animal. El polvo secado puede contener 50% de proteína con un valor biológico cerca del 75% y un valor neto de proteína utilizable del 70%. La digestibilidad y la utilización de la lisina también es relativamente alta (Koloman, 1990). Se han encontrado algunas enzimas como glucanasas y quitinasas en el crecimiento del micelio (Pera et al., 1999).

En varios escritos científicos se indica que los microbiales de uso directo (MUD) quizás benefician la nutrición del rumiante (en términos de ganancia de peso vivo y producción de leche) en magnitud similar a los ionóforos con los que se obtiene una mejora de 7 a 8% (Wallace, 1994).

2.4. Características del micelio

El mayor desperdicio de la manufacturación de antibióticos es el micelio fúngico que ha sido removido del caldo de fermentación, generalmente mediante filtración (usando fuentes de fibra) o mediante centrifugación. El contenido de

sólidos del caldo es de aproximadamente 15%. Aun con 85% de humedad, el material es una pasta que no fluye con facilidad (NRC, 1983).

Para secarlo, dos métodos se han usado: (1) Filtración - El contenido de proteína cruda del producto procesado por filtración varía de 20 a 50% dependiendo de cuanta fibra es usada en la filtración (10-30 de cenizas). El bajo contenido de proteína es debido a la dilución con altos niveles de cenizas que resulta de la inclusión de materiales insolubles para el control de pH y para facilitar la filtración; (2) Centrifugación – Usando el proceso de centrifugación, el contenido de proteína puede ser mayor a 70%. La digestibilidad de la proteína de levaduras u hongos es superior a 70%, en base seca (NRC, 1983).

2.5. Composición y digestibilidad del micelio

Una de las limitaciones del uso de hongos y otros organismos miceliales en alimentos para animales, es la digestibilidad. La pared celular del micelio esta compuesto de una mezcla de polímeros incluyendo quitinas, β -glucanos, lamarinas y peptidos. Adicionalmente, muchos de estos polímeros contiene enlaces cruzados (NRC, 1983).

Cuando el micelio, un residuo industrial de la producción de penicilina, es procesado para ser reutilizado como un nutriente complejo en la fermentación, el problema de digestión puede ser minimizado usando hidrólisis ácida o enzimática para solubilizar el micelio. Este proceso tiene la ventaja adicional de permitir que el material orgánico se concentre mediante evaporación para elaborar un producto parecido a la melaza (NRC, 1983). La digestión de las

células fúngicas ha sido realizada usando un caldo de fermentación conteniendo enzimas extracelulares. Por otro lado, un problema de palatabilidad ha sido observado cuando se ha ofrecido en alimentos para animales (NRC, 1983).

2.6. Cultivos Fúngicos y de Levaduras

2.6.1. Hongos

Los hongos son organismos multicelulares, aerobios, capaces de crecer en un amplio intervalo de pH, presión osmótica, temperatura, y con diferentes substratos como salvado de trigo, rastrojo de maíz, paja de avena, bagazo de caña, yuca, pulpa de café, pasta de coco, flor de cempasúchil, etcétera (Dabbah, 1970; Tapia et al., 1991; Flores et al., 1995; Montiel, 1998); son ricos en vitamina B y el contenido de proteína varía de 30 a 60 %.

2.6.2. Cultivo de levadura

Las levaduras son hongos unicelulares, que no forman micelio; son células ovoides o elípticas, no móviles, generalmente crecen en temperaturas de 25 a 40 °C, pueden tolerar alta acidez (pH 3.5) y están adaptadas a nichos con un alto contenido de azúcar. Las especies más comúnmente usadas en la alimentación son *Torulopsis utilis* (levadura de torula), *Saccharomyces cerevisiae* (SC) y *Saccharomyces fragilis*; el contenido promedio de proteína es del 50 % (Dabbah, 1970; Wallace, 1996).

2.6.3. Microbiales de uso directo (MUD)

El residuo fúngico fermentado, mezcla micelio, es el producto. La biomasa producida puede ser secada para producir polvo o gránulos, o puede ser usada fresca como suplemento para productos alimenticios. El polvo secado tiene un contenido de proteína del 50% con un valor biológico de cerca de 75% y un valor neto de proteína utilizable del 70% y la digestibilidad y utilización de lisina es también alto (Koloman, 1990). Algunas enzimas, como las quitinasas y las gluconasas se han hallado activas en el crecimiento del micelio (Pera et al., 1999).

Las levaduras tienen una habilidad limitada para multiplicarse en el fluido ruminal, pero parecen viables en un periodo prolongado de tiempo. (Wallace, 1996; Kung et al., 1997).

Diferentes tipos de microbiales de uso directo (MUD) compuestos de levaduras y hongos se han utilizado para mejorar la productividad animal , especialmente en rumiantes. El cultivo fúngico más empleado en la nutrición de rumiantes ha sido *Aspergillus oryzae* (AO) el cual se ha observado que tiene un gran efecto durante el primer ciclo de lactancia, al aumentar la producción de leche en vacas lecheras (Gómez-Alarcón et al., 1988; Kellems et al., 1990; Newbold et al., 1993), estimula el crecimiento en becerros como resultado en el incremento del CV, y la degradación de la MS por digestión de la pared celular de forraje altamente fibroso como la paja (Varel et al., 1993).

2.7. Uso de MUD en la nutrición de rumiantes

En ganado de engorda criado intensivamente se han obtenido respuestas en ganancias de peso vivo con la adición de MUD fúngicos (Adams et al., 1981). Aumenta la actividad de bacterias celulolíticas (Frumholtz et al., 1989; Yoon y Stern, 1996) y aumenta el número de bacterias proteolíticas (Yoon y Stern, 1996), es activamente proteolítico y no afecta la actividad de la peptidasa e incrementa la actividad enzimática de la desaminasa, amilasa, lipasa, celulasa y estearasa (Gómez-Alarcón et al., 1988; Fondevila et al., 1990; Newbold et al., 1993; Varel et al., 1993; Welch y Calza, 1993; Higginbotham et al., 1994). Tapia y Herrera-Saldaña (1989), notaron que especies fúngicas difieren en sus efectos en la desaparición de la MS en rumen, lo que indica que la respuesta a cultivos fúngicos esta influenciado por la composición de la dieta; además, la efectividad de *Aspergillus oryzae* en la digestibilidad de la dieta podría estar influenciado por el tipo de grano usado en la dieta (Ayala et al., 1992).

Nisbet y Martin (1990, 1993) observaron que el ácido orgánico L-malato tiene una función importante en la estimulación del consumo de lactato por *S. ruminantium* tratada con *Aspergillus oryzae* (comercialmente conocido como Amaferm). En otro estudio, Nisbet y Martin (1990) observaron que una mezcla de microorganismos ruminales incubados con Amaferm (una concentración de 1.0 g L⁻¹) incrementó la producción de H₂, CH₄, acetato, butirato, total de ácidos grasos volátiles (AGV's) y NH₃. La adición de Amaferm a las fermentaciones de almidón soluble tendió a mejorar la producción de hidrógeno metabólico, CH₄,

acetato y AGV's totales. La producción de propionato se incremento y disminuyó la proporción acetato: propionato.

El cultivo de levadura más utilizado como MUD ha sido el *Saccharomyces cerevisiae* (SC) y a continuación se muestran algunos de los efectos más importantes hallados en los últimos años. El cultivo de levadura incrementó el consumo voluntario y la ganancia de peso después del destete en becerros y corderos (Wallace y Newbold, 1992). En borregos no hubo diferencias en ganancia de peso o en la calidad de la canal, pero el rendimiento en canal de los animales que recibieron el cultivo de levadura, fue mejor ($P < 0.05$) respecto al grupo testigo (Wells y Mason, 1976).

La inclusión de SC en la dieta no cambió ($P > 0.05$) la ganancia de peso diaria (El Hassan et al., 1996), el consumo de MS, o peso de las canales de borregos, al adicionar SC a una dieta de pulpa de remolacha y cebada (Rouzbehan et al., 1994), ni en becerros alimentados con 60% de alfalfa y 40 % de concentrado con la adición de semilla de algodón y levadura (Malcolm y Kiesling, 1990).

El principal efecto de la levadura en cabras en lactación temprana fue inducir la movilización de más reservas de energía, por los altos niveles de ácidos grasos no esterificados (AGNE), y hubo una alta producción de leche (Giger-Reverdin et al., 1996). Sin embargo, Erasmus et al. (1992) observaron que la producción diaria de leche y su porcentaje de grasa no fueron afectados al incluir SC en la dieta, así como en cabras y borregas en lactación (Hadjipanayiotou et al., 1997).

El SC aparentemente tiene un efecto químico en el rumen y en varias investigaciones han demostrado que la inclusión de cultivo de levadura en la dieta incrementa la cantidad total de AGV's producidos *in vivo* e *in vitro*, pero no siempre han sido significativos (Dawson et al., 1990).

Al igual que AO, el SC produce enzimas como la amilasa, proteasa y celulasa, las cuales pueden ayudar a la digestión de nutrientes (Higginbotham et al., 1994).

En un estudio realizado por Flores y Pérez-Gil (2002), en el que se utilizó 50% de ensilado de maíz y 50% de suplemento peletizado (cebada, pulpa de punta de caña seca y soya), en base seca, mas 40 g de paja de rye grass por kg, y dos dosis de levadura (20 y 40 g por d), hallaron que el consumo de materia seca (CMS) se incrementó cerca de 200 gramos con la adición de la levadura, que quizás derive de un incremento en la palatabilidad de la dieta, y de una estimulación de la actividad fermentativa microbial en el rumen especialmente por las bacterias celulolíticas.

2.8. La energía en las dietas para ovinos

La energía resulta de la utilización de los nutrientes absorbidos por los procesos metabólicos tales como la oxidación y la síntesis. Generalmente es medida como calor de combustión. Los valores calóricos de los constituyentes individuales de los alimentos son características de su composición química (NRC, 1985). El valor energético de un constituyente es medido como calor liberado cuando la sustancia es completamente oxidada a bióxido de carbono y

agua. La cantidad de energía liberada es medida en calorías y es referida como energía cruda o bruta (E); sin embargo, E es determinada por la quema completa de un constituyente en una atmósfera de oxígeno, la producción de energía, por lo tanto, si la vía de oxidación en un sistema biológico o una estufa, es la misma si es tomado para el mismo estado de oxidación o productos finales (NRC, 1985).

En estudios ya realizados, la eficiencia de utilización de la energía metabolizable (EM) por los rumiantes es conocida por ser baja para forrajes que para dietas a base forrajes y concentrados o para raciones todo concentrado (Webster, 1978).

Las relaciones entre la energía retenida (ER) y energía metabolizable (EM) consumida, junto con la convención que separa las funciones de mantenimiento y producción, forman la base de una discusión de la eficiencia energética de rumiantes (Garret, 1980).

2.9. Proteína Unicelular

Las Proteínas son "compuestos orgánicos que ocurren naturalmente como constituyentes de los organismos vivos en cualquiera de la gran clase de complejas combinaciones de aminoácidos (unidades estructurales), que contienen carbono, nitrógeno y oxígeno, y algunos de ellos, también fósforo y azufre" (NRC, 2007).

En los animales, las proteínas se encuentran en el tejido muscular. La síntesis de proteínas es esencial para la vida. Este proceso es muy rápido en las

células epiteliales del intestino. El contenido de proteína en la ración disminuye con la edad, siendo necesaria solamente una cantidad suficiente para el mantenimiento de los animales adultos. Para el crecimiento, la gestación y la lactancia, se requieren cantidades adicionales de proteína (NRC, 2007).

Los rumiantes pueden sintetizar proteína en su rumen a partir de compuestos nitrogenados no-proteínicos (nitrógeno no-protéico), como la urea, mientras que los no-rumiantes dependen de proteína verdadera, y consecuentemente de aminoácidos en la dieta para las funciones de mantenimiento y producción (NRC, 2007).

Nitrógeno no protéico (NPN) son compuestos nitrogenados como la urea y los nitratos, que no son proteína verdadera, pero que pueden ser utilizados por las bacterias para sintetizar proteína microbiana en el rumen". En las raciones para ganado bovino u ovino de engorda en corral, es común usar urea como fuente de NNP. Sin embargo, la proteína verdadera representa solamente un 70% del N de los forrajes frescos, 60% de los forrajes henificados, y menores cantidades en los ensilajes, siendo el resto N no-protéico (NRC, 2007).

2.10. Objetivos

2.10.1. Objetivo General

Determinar el efecto del nivel de micelio en la ración de corderos, en sustitución de harina de soya, sobre el desempeño, tiempos de consumo y rumia, y digestibilidad de la materia seca.

2.10.2. Hipótesis

El micelio puede sustituir parcialmente a la harina de soya en raciones para corderos, como fuente de proteína, sin afectar negativamente el desempeño o la digestibilidad de la materia seca.

2.10.3. Metas

Determinar el nivel óptimo de sustitución del micelio en la ración de corderos en crecimiento, con el propósito de hacer recomendaciones a los productores para optimizar su uso en alimentos para rumiantes.

CAPÍTULO III

MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Instalaciones y equipo

Tres experimentos, uno de desempeño, otro de digestibilidad y fermentación ruminal, y un tercer estudio, de metabolismo energético, fueron llevados a cabo en las instalaciones de la Facultad de Agronomía, de la Universidad Autónoma de Nuevo León, Monterrey, Nuevo León, y las instalaciones del Centro de Acopio de la Asociación de Criadores de ovinos del Noreste, localizado en Higuera N. L. Las instalaciones contaban con corrales individuales y jaulas metabólicas para llevar a cabo los estudios de desempeño y metabolismo, respectivamente.

3.2. Experimento 1 (prueba de desempeño)

3.2.1. Características de los animales y diseño experimental

Treinta y dos corderos Pelibuey machos enteros, de 3 a 4 meses de edad, con un peso promedio de 21.2 kg, fueron asignados aleatoriamente a cuatro tratamientos en un diseño completamente al azar. La prueba de desempeño tuvo una duración de 75 días, 15 días para adaptación de los corderos a los corrales y a las raciones, y 60 días para registrar datos de peso corporal, consumo y ganancia de peso.

3.2.2. Manejo de los animales

Los corderos se confinaron individualmente en corraletas de 1 x 2 m. A los animales se les aplicó un desparasitante y se les inyectó vitaminas A, D y E. Agua fue ofrecida a libre acceso. Durante el estudio de desempeño, los corderos se pesaron los días 0, 30 y 60 de la fase de colección, para determinar la ganancia diaria de peso.

3.2.3. Preparación y manejo de la alimentación

Los alimentos experimentales se presentan en el Tabla 1. Las raciones se formularon para ser isoproteicas (16% proteína cruda), reemplazando harina de soya con micelio, como fuente de proteína. Para poder secar el micelio mas eficientemente, sin dañar las proteínas, el micelio se secó en una mezcla con cascarilla de soya. Los tratamientos constaron de 0, 2.7, 5.4 y 8.1% de micelio.

La cantidad total de alimento que se ofreció en dos porciones durante el día (8 a.m. y 3 p.m.), fue calculada considerando el consumo diario y un 10% adicional, para reducir la selección de los componentes de las raciones por los corderos. La conversión alimenticia se calculó usando los consumos y ganancias de peso promedio de los corderos durante el estudio.

3.2.4. Colección de muestras y registro de datos

Las pruebas constaron de tres etapas: (1) etapa experimental o de campo; (2) etapa de análisis de muestras en el laboratorio; (3) etapa de análisis e interpretación de datos.

3.2.5. Análisis de muestras

Al final de la fase de colección de la prueba de digestibilidad, las heces, y muestras de alimentos ofrecidos y rechazados, fueron secadas individualmente en una estufa de aire circulante a 55°C durante aproximadamente 96 horas, hasta un peso constante. Posteriormente, todas las muestras de alimento y heces fueron molidas a través de un molino Willey con una criba de 2 mm, preparándolas para los análisis químicos.

Para cada animal, muestras compuestas de heces, alimento ofrecido y alimento rechazado, fueron secadas en una estufa a 105°C (AOAC, 1997) para determinar el contenido de MS residual. Extracto etéreo (EE) fue determinado mediante el método Goldfisch (AOAC, 1997). El contenido de cenizas fue determinado después de la combustión en una estufa a 550°C, durante 3 horas. El contenido de nitrógeno en alimento, heces y orina fue determinado usando el método micro-Kjeldahl (AOAC, 1997). El contenido de proteína cruda fue calculado como $N \times 6.25$.

La fibra en detergente neutro (FDN; constituyentes de la pared celular) fue analizada en muestras de alimentos y heces de acuerdo al procedimiento de

Goering y Van Soest (1970), con las modificaciones propuestas por Harris (1970). Algunas adecuaciones al procedimiento, fueron específicamente el filtrado del residuo, el cual se llevó a cabo en embudos Buchner, utilizando papel filtro Whatman No. 40, el cual fue secado y pesado previamente, pasando la solución mediante succión, con apoyo de una bomba de vacío de 0.75 caballos de fuerza.

TABLA 1
COMPOSICIÓN DE LOS ALIMENTOS PARA OVINOS CON VARIOS NIVELES DE MICELIO EN LA RACIÓN

	Micelio en ración (%)			
	0	2.7	5.4	8.1
Ingrediente				
Cascarilla de soya	100	100	100	100
Sorgo, grano ¹	702	711	726	734
Harina de soya	113	77	35	0
Micelio	0	27	54	81
Melaza	60	60	60	60
Fosfato dicálcico	10	10	10	10
Carbonato de calcio	9	9	9	9
Urea	5	5	5	5
Premezcla ²	1	1	1	1
Composición química, base seca				
Proteína cruda, %	18.4	18.3	18.2	17.9
Fibra detergente neutro, %	30.3	31.6	28.0	29.4
Extracto etéreo, %	1.2	1.5	1.3	1.7
Cenizas, %	5.5	6.9	5.7	6.7

¹Grano: 50% entero y 50% molido.

²Minerales traza, vitaminas A y E, y Lasalocid sódico (30 g/ton).

3.2.6. Matanza de los ovinos

Al finalizar el estudio, los animales fueron llevados a un rastro tipo TIF, a las 5:00, donde se les midió la altura del piso a la cruz (cm), longitud de tuberosidades (cm) de la escápulo humeral a la coxofemoral, y la circunferencia torácica (cm). Debido a que las diferencias en el contenido gastrointestinal puede influir en forma importante sobre las variaciones en los rendimientos de la canal al sacrificio y en frío, se obtuvieron los pesos de las vísceras con y sin digesta (contenido gastrointestinal). Los pesos del cuero, cabeza, hígado, pulmones, testículos y sangre también fueron registrados.

Los corderos se sacrificaron, y el peso de la canal al sacrificio (caliente; inmediatamente después del sacrificio), y el rendimiento de la canal caliente (peso de la canal caliente como porciento del peso vivo), fueron obtenidas. Las canales fueron colgadas y refrigeradas por un periodo de 24 horas a una temperatura de 3-5°C, y posteriormente, pesadas para obtener el peso de la canal fría. El rendimiento de la canal fría (%) fue calculado (peso de la canal fría como porciento del peso al sacrificio).

3.2.7. Procedimiento de clasificación de las canales

Las variables de calidad de la canal fría incluyeron, cobertura de grasa, grasa del RPC (riñón, pelvis y corazón), y área del ojo del lomo (rib eye). Otras variables de calidad de la canal que se midieron fueron: (1) marmoleo; (2) madurez en hueso; (3) madurez de la carne; (4) madurez final; (5) color de la carne; (6) textura; (7) apariencia, y (8) grado final de clasificación (Superior,

Selecta, Buena, Estándar, y Comercial), según el Meat Evaluation Handbook (1992).

Otros parámetros que fueron medidos son: (1) tamaño del ojo de la costilla (área del rib eye), (2) grasa externa, (3) grasa del riñón, pelvis y corazón, (4) rendimiento en la tabla, y (5) grado de rendimiento preliminar. La medición del tamaño del área del ojo de la costilla se realizó entre la 12ª y la 13ª costillas. Además, se midieron los cortes primarios (como % de la canal fría): (1) piña (pierna), (2) sirloin, (3) t-bone, (4) chuleton, (5) paleta, (6) costilla, (7) pescuezo, y (8) falda.

Para determinar la calidad de la canal se utilizó el criterio de marmoleo en la región de la falda e ijar, utilizando las fotografías oficiales de marmoleo del departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA) y de acuerdo a la tabla de doble entrada de los estándares oficiales de este departamento, se les asignó su calidad final.

3.2.8. Análisis estadístico

Los datos obtenidos fueron evaluados estadísticamente mediante un análisis de varianza para un diseño completamente al azar, y se aplicaron polinomios ortogonales, para determinar los efectos lineal y cuadrático de las variables, en respuesta a un incremento en el nivel de micelio en la ración (Steel y Torrie, 1980).

3.3. Experimento 2 (Prueba de digestibilidad y fermentación ruminal)

3.3.1. Instalaciones para la investigación

Este estudio se llevó a cabo en las instalaciones del Centro de Acopio de la Asociación de Criadores de ovinos del Noreste, ubicado en la carretera a Higuera, N. L. La investigación se llevó a cabo para determinar el efecto de un incremento en el nivel de micelio en las raciones de ovinos de engorda en corral, en el consumo y digestibilidad de la MS, los tiempos de masticación (rumia y consumo), retención de nitrógeno, y pH y concentraciones de ácidos grasos volátiles en el rumen.

3.3.2. Animales y tratamientos

Veinte borregos pelibuey machos enteros en crecimiento, con un peso promedio de 35 kg, fueron asignados aleatoriamente a cuatro grupos, en un diseño completamente al azar. Los tratamientos fueron: (1) 0%; (2) 2.7%; (3) 5.4% y (4) 8.1% de una mezcla de micelio con cascarilla de soya (60:40). Las raciones fueron las mismas que se usarán en el experimento 1 (Cuadro 2). Los borregos se confinaron individualmente en jaulas metabólicas (1.5 m²), con agua y alimento disponibles todo el tiempo.

3.3.3. Alojamiento y manejo de los animales

El estudio tuvo una duración de 28 días, de los cuales 21 días fueron para la adaptación de los ovinos a las jaulas y a los alimentos, y 7 días para la

obtención de muestras y medición de los tiempos de consumo, rumia y masticación total. A los animales se les desparasitó y se les inyectó una vacuna triple contra enfermedades clostridiales. El agua fue ofrecida a libre acceso. Los borregos fueron confinados individualmente en jaulas metabólicas (1.5 m²).

La cantidad total de alimento fue ofrecida en dos porciones (8:00 y 15:00), y se calculó considerando el consumo diario anterior más un 10% adicional, para reducir la selección de los componentes de la ración por los borregos. Los ovinos se pesaron dos días consecutivos antes de iniciar y al final de la etapa de muestreo.

3.3.4. Alimentación durante la prueba

Los alimentos utilizados en el experimento, se presentan en el Cuadro 1. La cantidad total de alimento se ofreció en tres porciones iguales durante el día (08:00 y 15:00 horas), y se calculó, considerando el consumo diario y un 10% adicional, para reducir la selección de los componentes de las raciones por los corderos.

3.3.5. Manejo de los corderos

El experimento tuvo una fase de adaptación y la fase principal duró 7 días para colección de muestras y datos. Para ello, los corderos fueron pesados al inicio y al final del periodo de muestreo, antes de ofrecer la primer comida del día.

3.3.6. Obtención de muestras

Durante la fase de colección, el volumen total de heces y orina fueron colectadas, pesadas y congeladas. Al final de los 7 días de la fase de colección, todas las heces fueron secadas en una estufa de aire forzado a 55°C por 96 horas.

3.3.7. Actividades de masticación

La prueba de digestibilidad tuvo una duración de 8 días, 7 días para la colección de muestras de alimento y heces, y obtención de datos, y el último día para registro de las actividades de masticación (tiempos de consumo y rumia). Durante un período de 24 horas, se registró cada 5 minutos, las actividades de consumo y rumia, para calcular el tiempo total de masticación de los borregos.

3.3.8. Análisis de muestras

Para determinar el contenido de MS residual de las muestras presecas de heces y alimento, una estufa a 105°C (AOAC, 1997) fue utilizada. Las muestras presecas fueron molidas en un molino Wiley a través de una malla de 1 mm, en preparación para los análisis químicos. El extracto etéreo fue determinado por el método Goldfisch, mientras que el contenido de cenizas se obtuvo con la combustión de los alimentos, en una mufla a 550°C, durante tres horas. Los constituyentes de la pared celular (FDN) fueron analizados en muestras de

alimento y heces, usando la metodología sugerida por Goering y Van Soest (1970). El contenido de nitrógeno del alimento, heces y orina fue determinado mediante el procedimiento analítico micro-Kjeldahl, publicado por la AOAC (1997). La proteína cruda fue calculada como $N \times 6.25$.

El líquido ruminal se obtuvo mediante el uso de un tubo estomacal, dos horas después de ofrecer la comida de la mañana. El pH fue medido inmediatamente con un potenciómetro Beckman 390. En el momento posterior a la colección, y después de medir el pH, se agregó 1 ml HCl a cada una de las muestras para parar la fermentación. Posteriormente, las muestras se prepararon para los análisis por cromatografía de gases.

Para la determinación de ácidos grasos volátiles, las muestras primeramente se descongelaron y se centrifugaron a $10,000 \times g$ durante 10 minutos. Cinco ml del sobrenadante se mezclaron con 1 ml de ácido metafosfórico al 25% (peso/volumen) como indicador interno, en donde el contenido fue de aproximadamente 2 g de ácido 2-etilbutírico (estándar interno) por litro, y nuevamente se centrifugaron a $10,000 \times g$ durante 10 minutos. La fracción sobrenadante resultante, fue analizada para obtener la concentración de ácidos grasos volátiles (AGV) por cromatografía de gases (Goetsch y Galean, 1983). La concentración total (mM) fueron determinadas, y la proporción molar de AGV fue calculada.

3.3.9. Análisis estadístico

La digestibilidad, la retención y balance de nitrógeno, las actividades de consumo y rumia, el pH y las concentraciones de AGVs en el rumen, fueron analizados mediante un análisis de varianza para un diseño completamente al azar, usando polinomios ortogonales, para determinar los efectos lineal y cuadrático de los tratamientos (Steel y Torrie, 1980).

3.4. Experimento 3 (Utilización de la energía)

3.4.1. Animales y tratamientos

Las muestras de alimento, heces y orina obtenidas del Experimento 2, con 20 borregos Pelibuey machos confinados en jaulas metabólicas, que consumieron dietas con 0, 2.7, 5.4 y 8.1% de micelio, para la determinación de variables de digestibilidad y metabolismo (Cuadro 2), fueron usadas para determinar su calor de combustión (energía bruta), en una bomba calorimétrica, Entre las variables medidas se incluyó el consumo de energía metabolizable de los borregos.

Los valores de la energía perdida por la producción de metano fue calculado según Orskov et al. (1968), con la siguiente ecuación: $Y = 0.498X - 20.6$; donde Y es la energía perdida como metano (Mj/40 moles de carbohidratos digestibles); y X es la concentración de ácido acético (milimoles/mol) en el fluido ruminal.

3.4.2. Análisis de muestras

A las muestras presecas molidas en un molino Wiley a través de una malla de 1 mm, se determinó el contenido de MS residual, al mantenerse en una estufa de aire forzado a 105°C (AOAC, 1997), durante 24 horas.

El contenido de energía bruta (calor de combustión) del alimento ofrecido y rechazado, heces y orina, fue obtenida usando una Bomba Adiabática Pharr®. El método usado fue el establecido por AOAC (1997), usando como referente, el ácido benzoico.

3.4.3. Análisis estadístico

Los datos de energía consumida y excretada, y consumo de energía metabolizable fueron analizados mediante un análisis de varianza para un diseño completamente al azar, mediante contrastes ortogonales, para determinar los efectos lineal y cuadrático de los tratamientos (Steel y Torrie, 1980).

CAPÍTULO IV

RESULTADOS

4.1. Experimento 1 (Prueba de desempeño)

4.1.1. Composición química del micelio

En el Tabla 2, se presenta la composición química del micelio seco. El nivel de proteína superó el 70%, en base seca. La digestibilidad *in vitro* fue de 78.2%. También se presentan los niveles de cenizas (6.9%), fibra en detergente neutro (19%), extracto etéreo (1.23%), calcio (0.97%), fósforo (1.21%), y el perfil de aminoácidos.

4.1.2. Desempeño de los corderos

En la Tabla 3, se presenta el consumo de materia seca (MS), la ganancia de peso y la eficiencia alimenticia de corderos consumiendo varios niveles de micelio en raciones de engorda. El consumo de MS fue de 1020, 1184, 1107 y 894 g/día para corderos consumiendo raciones con 0, 2.7, 5.4 y 8.1% de micelio, respectivamente. Un efecto cuadrático ($P < 0.01$) se obtuvo con un aumento en el nivel de micelio en la ración.

Un efecto cuadrático ($P < 0.02$) de la ganancia diaria de peso se pudo observar con un aumento en el contenido de micelio en la ración (Tabla 3). La ganancia diaria de peso (g/d) fue de 269, 295, 262 y 197 para 0, 2.7, 5.4 y 8.1% de micelio, respectivamente. Una respuesta en la ganancia de peso parece estar relacionada con el consumo de MS de los corderos. Un mayor consumo

TABLA 2
COMPOSICIÓN QUÍMICA DEL MICELIO DE *PENICILLIUM*
CHRYSOGENUM

Análisis	Composición química ¹	
	Base húmeda	Base seca
Humedad, %	6.28	---
Proteína cruda, %	66.5	70.9
Cenizas, %	6.5	6.9
Fibra en detergente neutro, %	17.1	19.0
Extracto etéreo, %	1.15	1.23
Calcio, %	0.91	0.97
Fósforo, %	1.13	1.21
Digestibilidad de la proteína, % ¹	---	78.21
Aminoácidos, %		
Aspártico	4.0	4.3
Glutámico	3.3	3.5
Serina	1.7	1.8
Histidina	2.0	2.1
Glicina	2.0	2.1
Treonina	2.0	2.2
Arginina	2.7	2.9
Alanita	3.8	4.0
Tirosina	2.2	2.4
Metionina	0.9	0.9
Valina	3.0	3.2
Triptófano	0.5	0.5
Fenilalanina	2.1	2.3
Isoleucina	2.1	2.2
Leucina	3.4	3.7
Lisina	4.6	4.9

¹Digestibilidad de la proteína en pepsina ácida y análisis de aminoácidos (Facultad de Biología, UANL) y análisis proximal, calcio y fósforo (Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UANL).

se reflejó en una mayor ganancia de peso.

Sin embargo, la conversión alimenticia (eficiencia alimenticia) empeoró linealmente ($P < 0.05$) con un aumento en el nivel de micelio en la ración (Tabla 3). Las conversiones alimenticias fueron 3.872, 4.020, 4.298 y 4.694 g de alimento por g de peso incrementado, para corderos consumiendo raciones con 0, 2.7, 5.4 y 8.1% de micelio, respectivamente.

4.1.3. Peso y rendimiento de la canal

Los pesos al sacrificio de los corderos fueron 37.0, 39.5, 36.5, y 33.8 kg para los tratamientos con 0, 2.7, 5.4, y 8.1% de mezcla de micelio en la ración (Tabla 4). El nivel de micelio en la ración no afectó ($P > 0.05$) los pesos de las canales caliente o fría. Para corderos que consumieron raciones con 0, 2.7, 5.4, y 8.1% de micelio, los pesos de la canal caliente fueron de 17.9, 19.1, 17.9 y 16.3%, mientras que para la canal fría fueron de 17.4, 18.5, 17.4, y 15.8%, respectivamente.

El nivel de micelio en la ración no afectó ($P > 0.05$) los rendimientos de la canal caliente o fría de los corderos (Tabla 4). Los rendimientos de la canal caliente fueron de 48.5, 48.2, 49.1 y 48.2% para corderos consumiendo raciones con 0, 2.7, 5.4 y 8.1% de mezcla de micelio, mientras que los rendimientos de la canal fría fueron de 47.0, 46.7, 47.7 y 46.7%, respectivamente.

TABLA 3
CONSUMO, GANANCIA DE PESO Y EFICIENCIA ALIMENTICIA
DE CORDEROS CONSUMIENDO VARIOS NIVELES DE
MICELIO EN RACIONES DE ENGORDA

Variable	Micelio (%)				EE ¹	P ²	
	0	2.7	5.4	8.1		L	Q
Consumo de alimento (g/d)	1020	1184	1107	894	66.0	0.136	0.008
Ganancia diaria de peso (g/d)	269	295	262	197	18	0.004	0.015
Conversión Alimenticia (g/g)	3.872	4.020	4.298	4.694	0.263	0.027	0.642

¹EE, error estándar de la media.

²P, probabilidad; L, efecto lineal; Q, efecto cuadrático.

TABLA 4

**PESO Y RENDIMIENTO DE LA CANAL EN CALIENTE Y FRÍO DE CORDEROS ALIMENTADOS
CON VARIOS NIVELES DE MICELIO EN RACIONES DE ENGORDA**

Variable	Mezcla de micelio (%)				EE ¹	P ²	
	0	2.7	5.4	8.1		L	Q
Peso al sacrificio (kg)	37.0	39.5	36.5	33.8	1.64	0.101	0.121
Peso de la canal caliente (kg)	17.9	19.1	17.9	16.3	0.83	0.111	0.106
Peso de la canal frío (kg)	17.4	18.5	17.4	15.8	0.82	0.118	0.107
Rendimiento de la canal caliente (%)	48.5	48.2	49.1	48.2	0.62	0.952	0.627
Rendimiento de la canal fría (%)	47.0	46.7	47.7	46.7	0.66	0.954	0.606
Rendimiento de la canal fría (%)	47.0	46.7	47.7	46.7	0.66	0.954	0.606

¹EE, error estándar de la media.

²P, probabilidad; L, efecto lineal; Q, efecto cuadrático.

4.1.4. Calidad de la canal

Variables de calidad de la canal, como marmoleo, grado de finalización, cobertura de grasa (mm), área del ojo del lomo (cm²) y grasa del RPC (riñón, pelvis y corazón; %), no cambiaron ($P > 0.05$) con un aumento en el nivel de micelio en la ración (Tabla 5). El marmoleo varió de trazas a modesto. Por otro lado, todas las canales clasificaron como buenas. El área del ojo del lomo varió de 2.16 a 2.38 cm². La grasa del RPC (riñón, pelvis y corazón) varió 2.04 a 2.36%.

4.1.5. Medidas de conformación y tamaño de órganos

En la Tabla 6, se observa que no hubo un efecto ($P > 0.05$) en las medidas de conformación de los corderos, como altura a la cruz (cm), longitud de tuberosidades (cm) o circunferencia torácica (cm).

El peso de algunos órganos de los corderos como corazón y pulmón aumentaron cuadráticamente ($P < 0.05$), conforme se incrementó el contenido de micelio en la ración.

4.2. Experimento 2 (Prueba de digestibilidad y fermentación ruminal)

4.2.1. Digestibilidad de la materia seca

En el Tabla 7 y Figuras 1, 2, y 3, se presentan los pesos y consumos de MS (g/día y g/ kg^{0.75}), así como las actividades de masticación de corderos

TABLA 5
EFFECTO DEL NIVEL DE MICELIO SOBRE LAS CARACTERISTICAS DE LA CANAL
EN CORDEROS CONSUMIENDO DIETAS PARA CORRAL DE ENGORDA

Variable	Mezcla de micelio (%)				EE ¹	P ²	
	0	2.7	5.4	8.1		L	Q
Marmoleo ^a	7	5	6	6	0.22	0.698	0.072
Grado de finalización ^b	3	3	3	3	1.92	0.897	0.630
Cobertura de grasa (mm)	0.025	0.150	0.037	0.043	0.050	0.796	0.246
Ojo del lomo (cm ²)	2.16	2.38	2.16	2.17	0.14	0.763	0.461
Grasa de RPC (%)	2.25	2.31	2.36	2.04	0.25	0.609	0.469

¹EE, error estándar de la media

²P, probabilidad; L, efecto lineal; Q, efecto cuadrático.

^a1, Abundante; 2, Moderadamente Abundante; 3, Ligeramente Abundante; 4, Moderado; 5, Modesto; 6, Ligero; 7, Trazas; 8, Casi desprovisto.

^b(1) Suprema; (2) Selecta; (3) Buena.

TABLA 6
DESARROLLO CORPORAL Y TAMAÑO DE LOS ÓRGANOS DE CORDEROS CONSUMIENDO
DIETAS CON VARIOS NIVELES DE MICELIO

Variable	Mezcla de micelio (%)				EE ¹	P ²	
	0	2.7	5.4	8.1		L	Q
Altura a la cruz (cm)	66.4	64.8	64.9	67.9	1.54	0.514	0.147
Longitud de tuberosidades (cm)	71.8	69.3	69.1	72.0	2.55	0.957	0.301
Circunferencia torácica (cm)	75.1	77.6	76.5	74.7	1.14	0.647	0.071
Piel	3.610	3.819	3.319	3.057	0.193	0.019	0.233
Hígado	0.835	0.935	0.812	0.723	0.051	0.053	0.076
Corazón	0.163	0.194	0.181	0.162	0.010	0.763	0.023
Pulmones	0.696	0.804	0.845	0.721	0.037	0.485	0.004
Sangre	2.705	2.835	2.759	2.607	0.074	0.276	0.068

¹EE, error estándar de la media.

²P, probabilidad; L, efecto lineal; Q, efecto cuadrático.

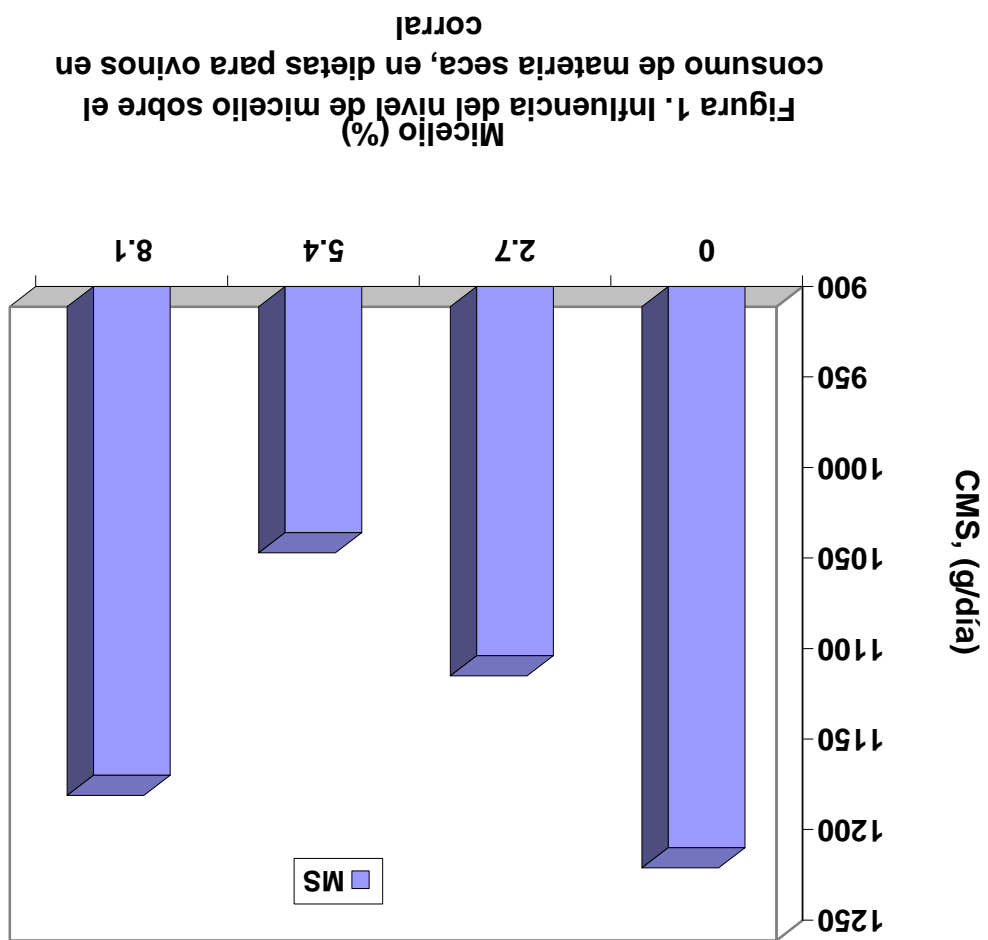
TABLA 7

INFLUENCIA DEL NIVEL DE MICELIO SOBRE EL CONSUMO DE MATERIA SECA Y TIEMPOS DE MASTICACIÓN EN OVINOS EN RACIONES DE ENGORDA.

Variable	Micelio (%)				EE ¹	P ²	
	0	2.7	5.4	8.1		L	Q
Peso (kg)	33.1	32.8	31.2	33.7	0.84	0.977	0.431
Consumo de MS (g/d)	1210	1104	1036	1170	41.8	0.626	0.170
Consumo de MS (g/kg ^{0.75})	87.8	80.2	79.0	83.2	2.2	0.460	0.206
Digestibilidad de MS (%)	58.9	56.7	55.8	54.1	1.6	0.295	0.936
Masticación (min/día)							
Rumia	240	264	197	247	8.1	0.532	0.431
Consumo	195	145	154	154	9.5	0.197	0.206
Masticación Total	435	409	351	401	10.5	0.108	0.089

¹EE, error estándar de la media.

²P, probabilidad; L, efecto lineal; Q, efecto cuadrático.



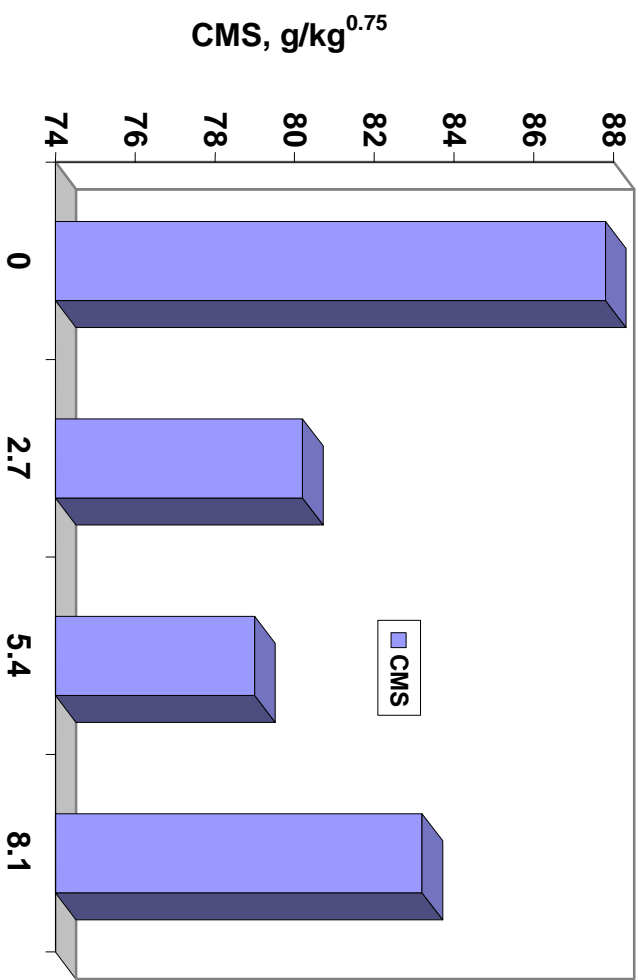


Figura 2. Efecto del nivel de micelio sobre el consumo de materia seca en gramos por kg de peso metabólico de ovinos en corral

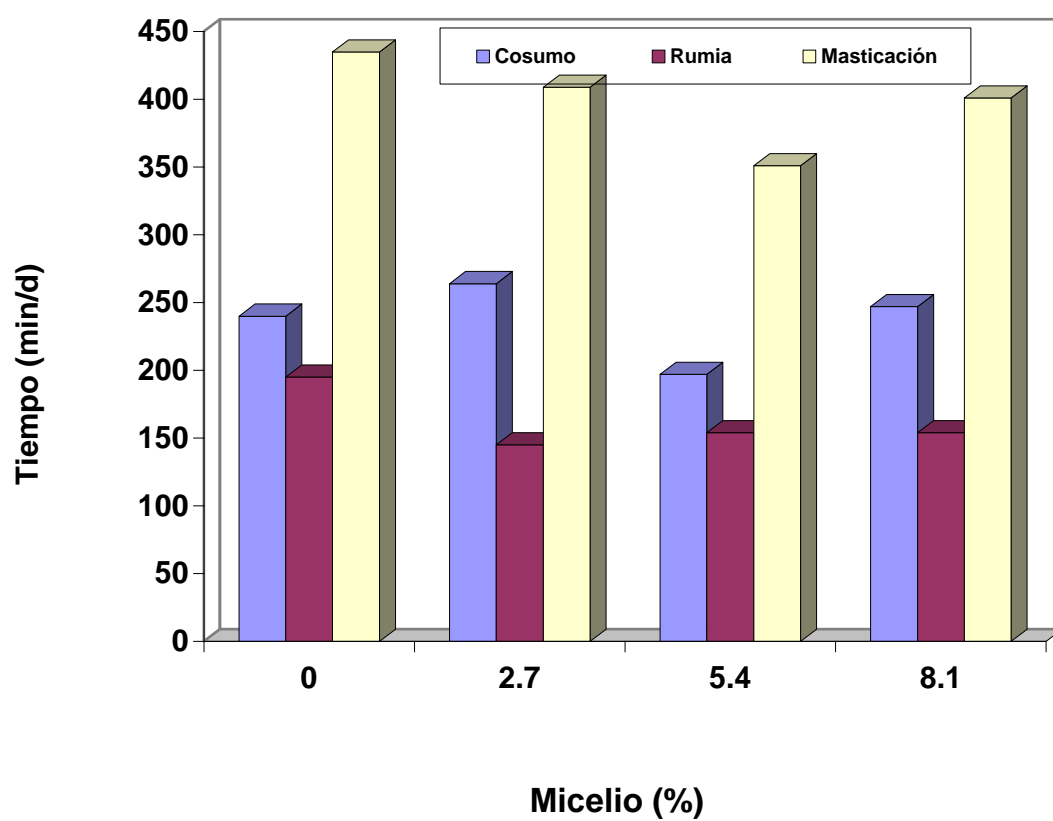


Figura 3. Efecto del nivel de micelio sobre el consumo, rumia y masticación total de ovinos en corral.

consumiendo raciones con diferentes niveles de micelio. El consumo de MS (g/día) no aumentó ($P > 0.05$) a medida que el nivel de micelio se incrementó en la ración. El consumo de MS, en $\text{g/kg}^{0.75}$, no cambió significativamente ($P > 0.05$) con un aumento en el nivel de micelio en las raciones.

Los tiempos de rumia, consumo y masticación total, no fueron afectados ($P > 0.05$) por el nivel de micelio en la ración. El pH del líquido ruminal tampoco cambió ($P > 0.05$) con la inclusión de micelio en las raciones.

La digestibilidad de la MS de los alimentos (Tabla 7), no fue afectada ($P > 0.05$) por la inclusión de micelio en las raciones. La digestibilidad de la MS fue de 58.9, 56.7, 55.8 y 54.1% para niveles de micelio en las raciones de 0, 2.7, 5.4 y 8.1%.

4.2.2. Efecto sobre la digestibilidad de la fibra en detergente neutro (FDN)

En el Tabla 8 y Figura 4 se muestra los efectos del nivel de micelio en la ración para ovinos en la cantidad de FDN consumida y digerida. La inclusión de micelio redujo ($P < 0.05$) la fibra digerida (g/día), y la digestibilidad de la FDN (%). Los consumos de FDN fueron de 152.2, 129.1, 114.5, 127.6 g por día, mientras que las digestibilidades fueron de 56.8, 54.8, 46.0, y 41.2% para 0, 2.7, 5.4 y 8.1% de micelio en la ración, respectivamente.

TABLA 8
INFLUENCIA DEL NIVEL DE MICELIO SOBRE LA DIGESTIBILIDAD
DE LA FIBRA DETERGENTE NEUTRO (FDN) EN OVINOS
DE ENGORDA EN CORRAL

Variable	Micelio (%)				EE ¹	P ²	
	0	2.7	5.4	8.1		L	Q
FDN consumida (g/d)	152.2	129.1	114.5	127.6	6.97	0.174	0.213
FDN excretada (g/d)	65.8	57.8	61.6	74.2	4.60	0.491	0.279
FDN digerida (g/d)	86.4	71.6	52.8	53.2	5.15	0.020	0.471
Digestibilidad de la FDN (%)	56.8	54.8	46.0	41.2	2.49	0.024	0.783

¹EE, error estándar de la media.

²P, probabilidad; L, efecto lineal; Q, efecto cuadrático.

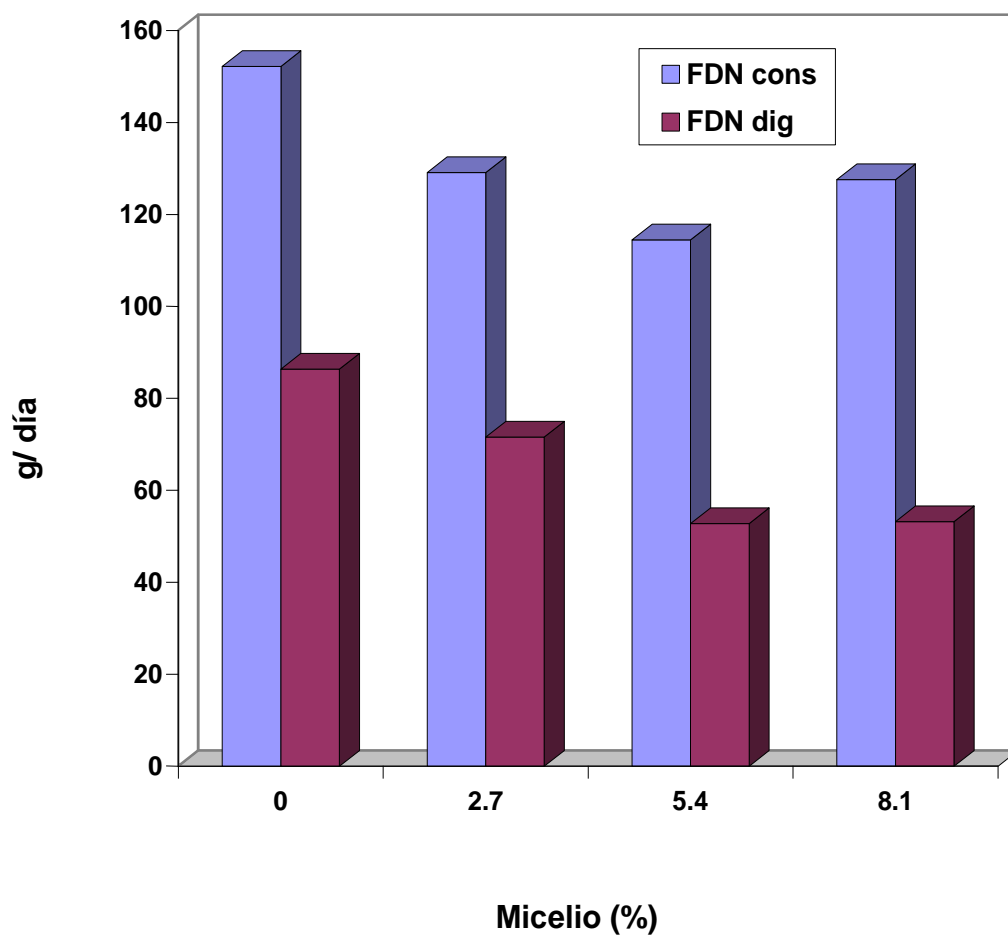


Figura 4. Influencia del nivel de micelio en FDN consumido y digerido en las raciones para ovinos en engorda.

TABLA 9
INFLUENCIA DEL NIVEL DE MICELIO SOBRE LA DIGESTIBILIDAD DE CARBOHIDRATOS
NO FIBROSOS (CNF) EN OVINOS DE ENGORDA EN CORRAL

Variable	Micelio (%)				EE ¹	P ²	
	0	2.7	5.4	8.1		L	Q
CNF consumida (g/d)	671.0	617.8	590.2	652.0	21.39	0.664	0.198
CNF excretada (g/d)	64.4	56.6	47.8	71.4	5.20	0.764	0.128
CNF digeridos (g/d)	606.8	563.2	542.6	580.8	19.10	0.572	0.300
Digestibilidad de los CNF (%)	90.4	91.4	92.0	89.0	0.725	0.587	0.187

¹EE, error estándar de la media.

²P, probabilidad; L, efecto lineal; Q, efecto cuadrático.

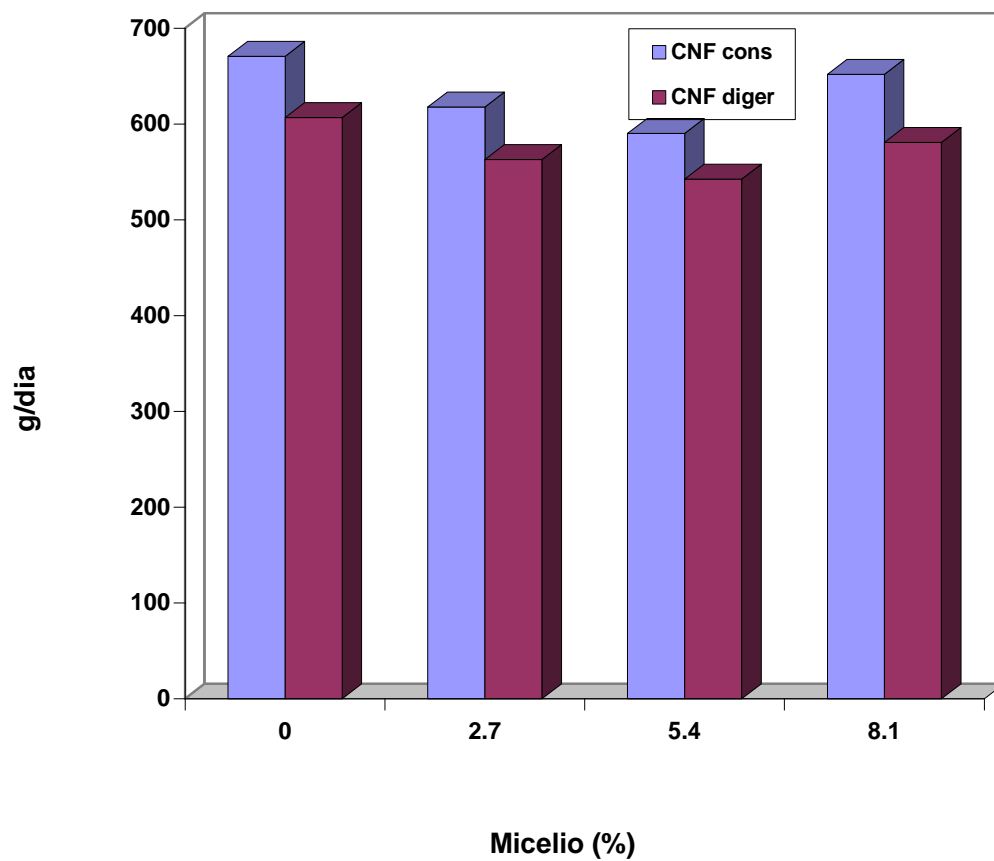


Figura 5. Influencia del nivel de micelio sobre el consumo y digestion de Carbohidratos no fibrosos, en dietas para ovinos en corral de engorda.

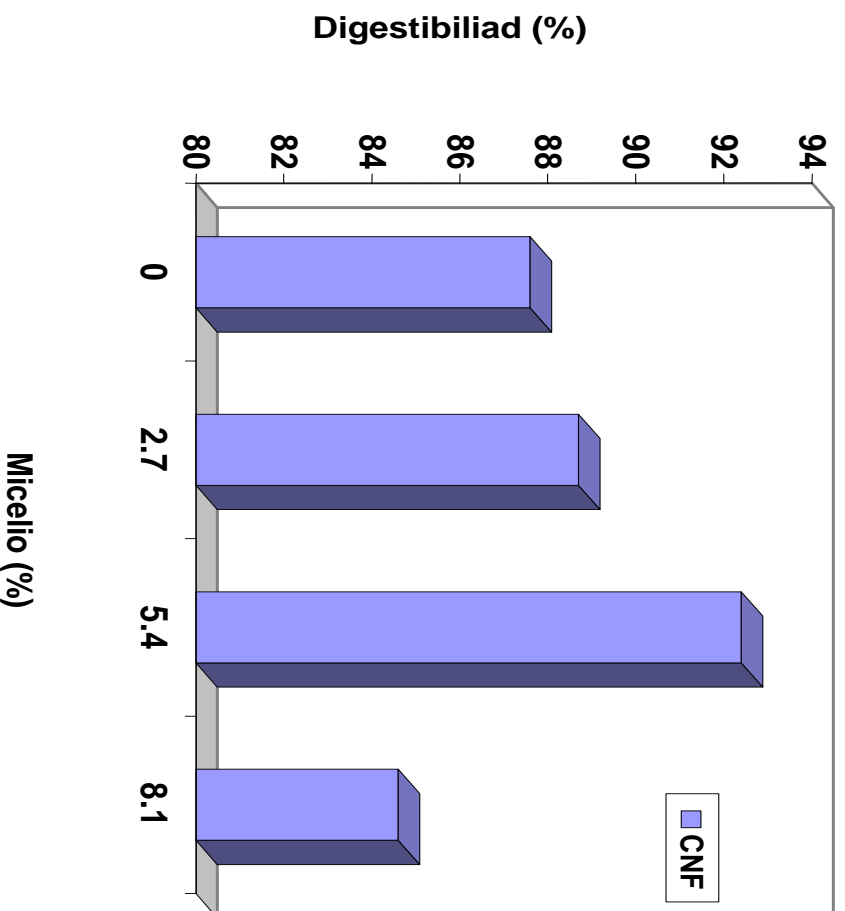


Figura 6. Digestibilidad de los CNF de las dietas con diferentes niveles de micelio, en ovinos en corral.

4.2.3. Efecto sobre la digestibilidad de los carbohidratos no-fibrosos (CNF).

En la Tabla 9 y en las Figuras 5 y 6, se observa el efecto del nivel de micelio sobre el consumo, digestibilidad, excreción y digestión de CNF (g/d). No se observó un efecto ($P > 0.05$) del nivel de micelio en la digestibilidad de los CNF. Los consumos de CNF fueron de 671.0, 617.8, 590.2, y 652.0 g/d para 0, 2.7, 5.4 y 8.1% de micelio en la ración, mientras que la digestibilidad de los CNF fue de 90.4, 91.4, 92.0 y 89.0, respectivamente.

4.2.4. Efecto sobre la retención de nitrógeno

En el Tabla 10, se presenta el efecto del nivel de micelio sobre el N consumido, N excretado en heces y orina, balance de nitrógeno, nitrógeno retenido y digestibilidad del nitrógeno de ovinos en jaulas metabólicas. La cantidad de nitrógeno consumido y excretado en heces y orina no fueron afectados ($P > 0.05$) por el nivel de micelio en las raciones de los corderos.

El balance de nitrógeno, el nitrógeno retenido, la digestibilidades aparente y verdadera del nitrógeno, tampoco cambiaron ($P > 0.05$), con un aumento del nivel de micelio. El balance de N (g/día) fue 30.9, 26.7, 25.6 y 28.1 g/d para 0, 2.7, 5.4 y 8.1% de micelio en la ración, respectivamente. En la Figura 7, se presenta los valores de las digestibilidades aparente y verdadera del N. La digestibilidad aparente del N fue 69.7, 73.4, 74.2 y 71.97%, mientras que la digestibilidad verdadera del N fue 59.1, 63.2, 64.8 y 60.7%, respectivamente.

4.2.5. Efecto sobre el pH y producción de ácidos grasos volátiles

En el Tabla 11, se presenta el efecto del nivel de micelio en la ración sobre el pH y la producción de ácidos grasos volátiles (AGV). El pH ruminal no cambió ($P > 0.05$) al aumentar el nivel de micelio en la ración de los borregos. El pH ruminal fue de 5.9, 6.0, 6.1 y 5.8 para 0, 2.7, 5.4 y 8.1% de micelio, respectivamente (Figura 8).

En el Tabla 11, se presentan las medias de los tratamientos con diferentes niveles de micelio en la ración, sobre el pH y la concentración de ácidos grasos volátiles (AGV) en el rumen de los corderos. En este estudio, no se observó cambio ($P > 0.05$) en el pH ruminal, conforme aumentó la cantidad de micelio en la ración. La concentración milimolar de acetato, propionato y butirato (Tabla 11) no cambió ($P > 0.05$) con la inclusión de micelio en la ración.

4.3. Experimento 3 (Utilización de la energía)

4.3.1 Consumo y excreción de energía

En el Cuadro 12 y Figura 10, se puede observar el efecto del nivel de micelio en la ración, sobre la utilización de la energía por corderos en finalización. En la Figura 9, se presenta el consumo de energía bruta (calor de combustión) y la excreción fecal de energía (Mcal/d). El consumo de energía bruta (Mcal/kg) consumida se redujo ($P < 0.05$) con un aumento en el nivel de micelio en la ración. La excreción fecal de energía no cambió ($P > 0.05$) con un aumento en el nivel de micelio ($P > 0.05$).

TABLA 10
INFLUENCIA DEL NIVEL DE MICELIO SOBRE EL BALANCE DE NITRÓGENO (N) EN
OVINOS CONSUMIENDO DIETAS DE CORRAL DE ENGORDA

Variable	Micelio (%)				EE ¹	P ²	
	0	2.7	5.4	8.1		L	Q
N Consumido (g/d)	41.2	36.8	35.6	39.6	1.42	0.644	0.160
N Excretado en heces (g/d)	8.18	7.68	7.24	9.24	0.55	0.558	0.276
N Excretado en orina (g/d)	2.65	2.75	2.71	2.21	0.22	0.476	0.486
Balance de Nitrógeno (g/d)	30.94	26.65	25.57	28.12	1.24	0.502	0.230
Retención de N (%)	87.41	89.67	90.89	88.45	0.89	0.593	0.207
Digestibilidad aparente del N (%)	69.71	73.35	74.23	71.88	1.24	0.502	0.223
Digestibilidad verdadera del N (%)	59.12	63.19	64.76	60.73	1.41	0.620	0.170

¹EE, error estándar de la media

²P, probabilidad; L, efecto lineal; Q, efecto cuadrático.

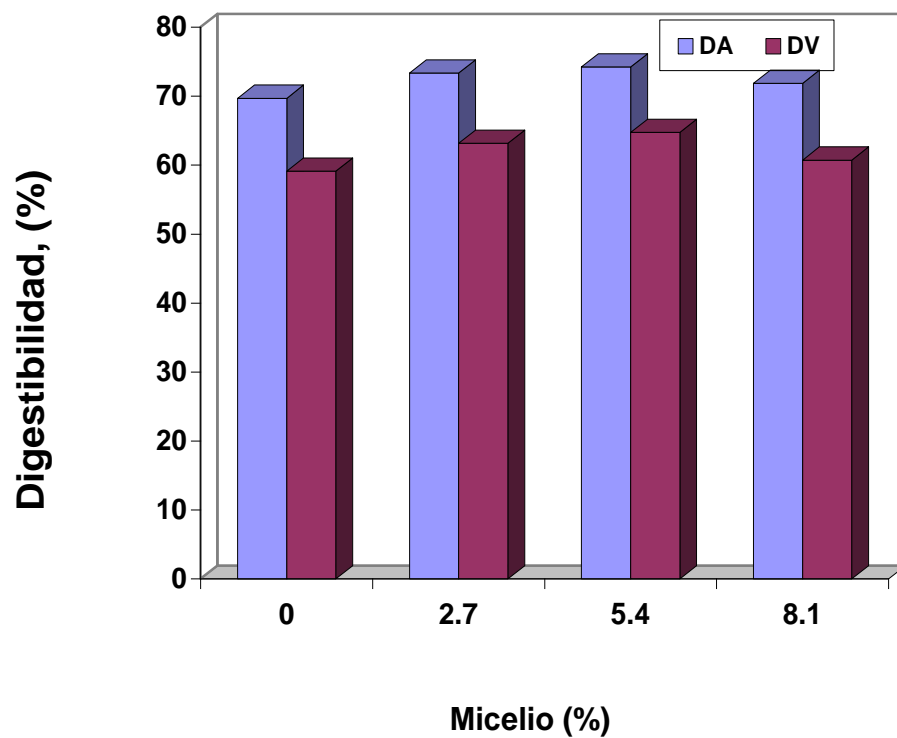


Figura 7. Digestibilidad aparente y verdadera del nitrógeno de raciones con diferentes niveles de micelio, en ovinos en finalización

TABLA 11

EFFECTO DEL NIVEL DE MICELIO EN LA RACIÓN DE CORDEROS DE ENGORDA, SOBRE EL pH Y LA PRODUCCIÓN DE ÁCIDOS GRASOS VOLÁTILES EN EL RUMEN.

Variable	Micelio %					P ²	
	0	2.7	5.4	8.1	EE ¹	L	Q
Ph	5.94	6.04	6.10	5.84	0.08	0.757	0.252
AGV, milimoles							
Ácido acético	20.4	21.8	21.1	24.1	1.26	0.369	0.762
Ácido propiónico	19.5	24.6	21.1	24.9	2.44	0.563	0.894
Ácido butírico	3.3	3.2	4.0	4.1	0.54	0.508	0.934
Total	43.1	49.6	46.2	50.5	2.96	0.493	0.852

¹EE, error estándar de la media.

²P, probabilidad; L, efecto lineal; Q, efecto cuadrático.

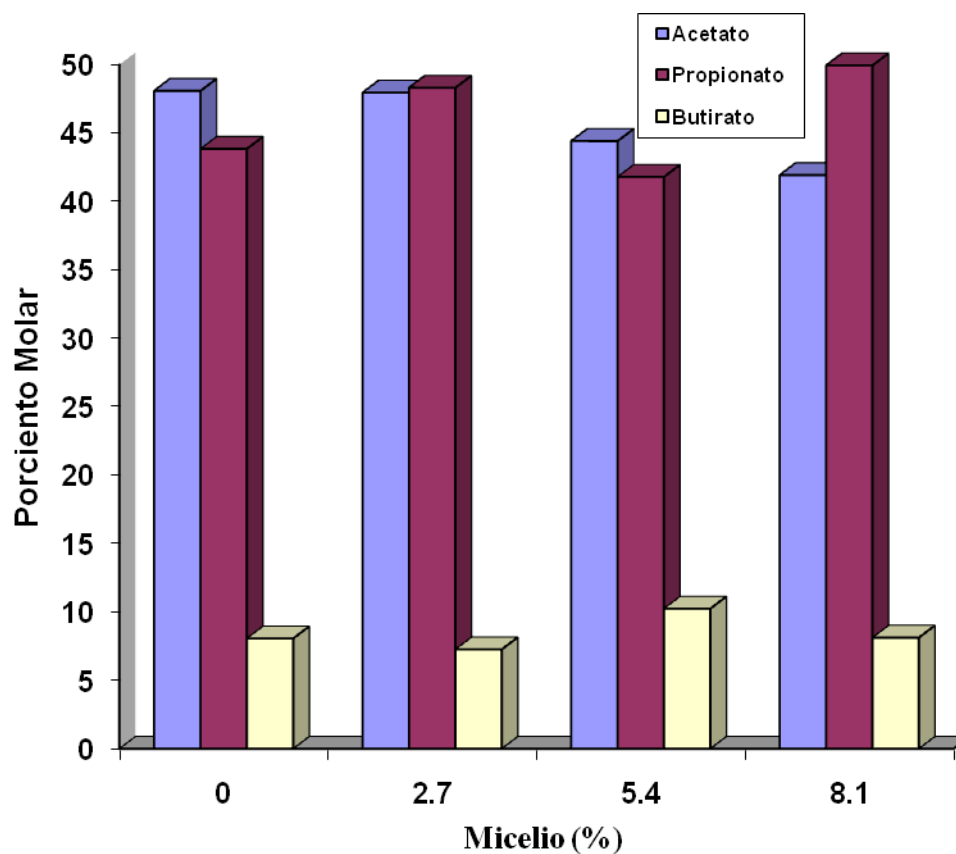


Figura 8. Efecto del nivel de micelio sobre el porcentaje molar de acetato, propionato y butirato en dietas para ovinos en corral

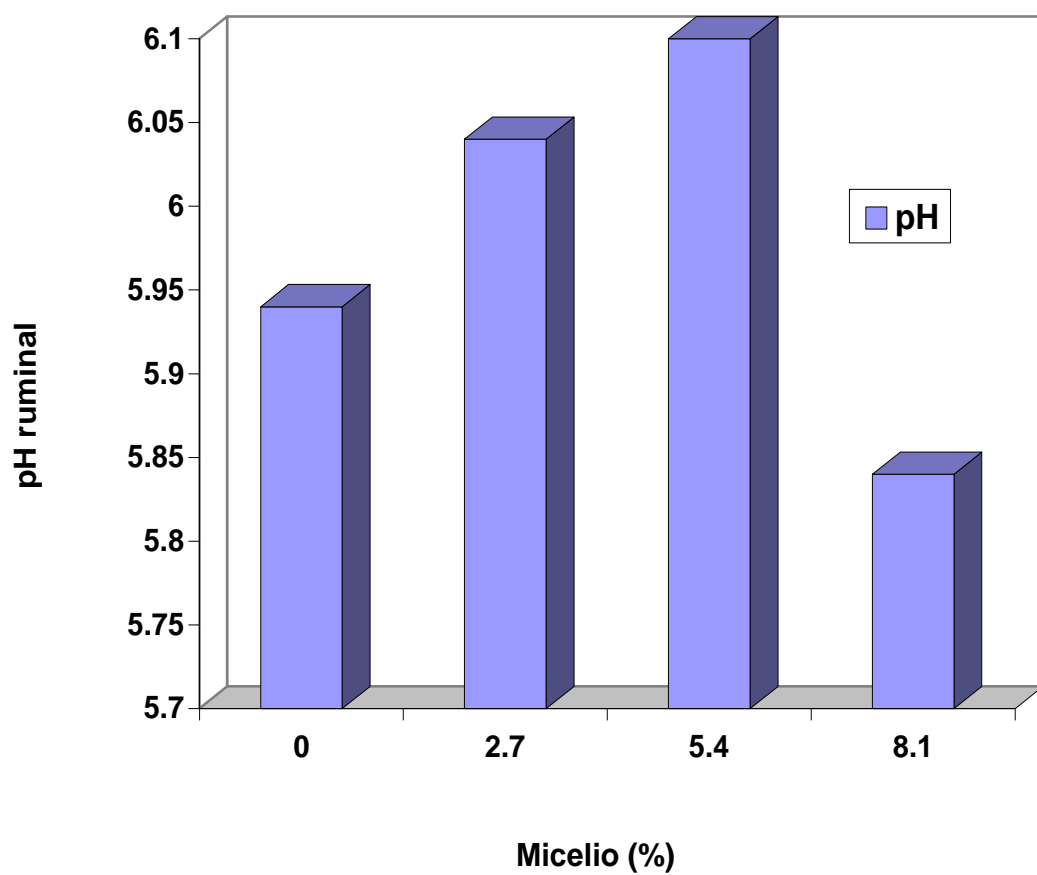


Figura 9. Influencia del nivel de micelio sobre el pH del liquido ruminal de ovinos alimentados con raciones para engorda

4.3.2 Energía digestible (ED) y metabolizable (EM)

Los consumos de ED y EM no fueron afectados ($P > 0.05$) con un aumento en el nivel de micelio en la ración (Cuadro 12 y Figura 11). Los consumos de energía bruta (Mcal/kg) fueron 3.980, 4.354, 3.816 y 4.662 Mcal/d para 0, 2.7, 5.4 y 8.1% de micelio en la ración, respectivamente. Cuando la energía consumida se expreso como EM (Mcal/día o Mcal/kg^{0.75}), no se observó un efecto ($P > 0.05$) conforme aumentó el nivel de micelio en la ración.

TABLA 12
EFFECTO DE LA DIETA CON VARIOS NIVELES DE MICELIO SOBRE EL
USO DE LA ENERGÍA POR OVINOS EN FINALIZACIÓN

Variable	Micelio (%)				EE ¹	P ²	
	0	2.7	5.4	8.1		L	Q
Peso corporal, kg	33.1	32.8	31.2	33.7	0.84	0.977	0.431
Energía consumida, Mcal/d	3.980	4.354	3.816	4.662	0.166	0.327	0.489
Energía en heces, Mcal/d	0.960	0.888	0.792	1.050	0.060	0.752	0.191
Energía digestible, Mcal/d	3.022	3.466	3.021	3.611	0.134	0.287	0.788
Energía en orina, Mcal/d	0.172	0.332	0.120	0.186	0.050	0.709	0.646
Energía en gases, Mcal/d	0.196	0.169	0.175	0.164	0.010	0.330	0.683
Consumo de EM, Mcal/d	1.696	2.293	1.935	2.212	0.108	0.216	0.832
Consumo de EM, Mcal/kg ^{0.75}	0.123	0.150	0.146	0.156	0.007	0.118	0.534
*Eficiencia de EM, %	43.0	48.4	51.1	47.2	2.49	0.502	0.367

¹EE, error estándar.

²P, Probabilidad; L, Efecto lineal; Q, efecto cuadrático.

*Calculada: (EM/EB) x 100

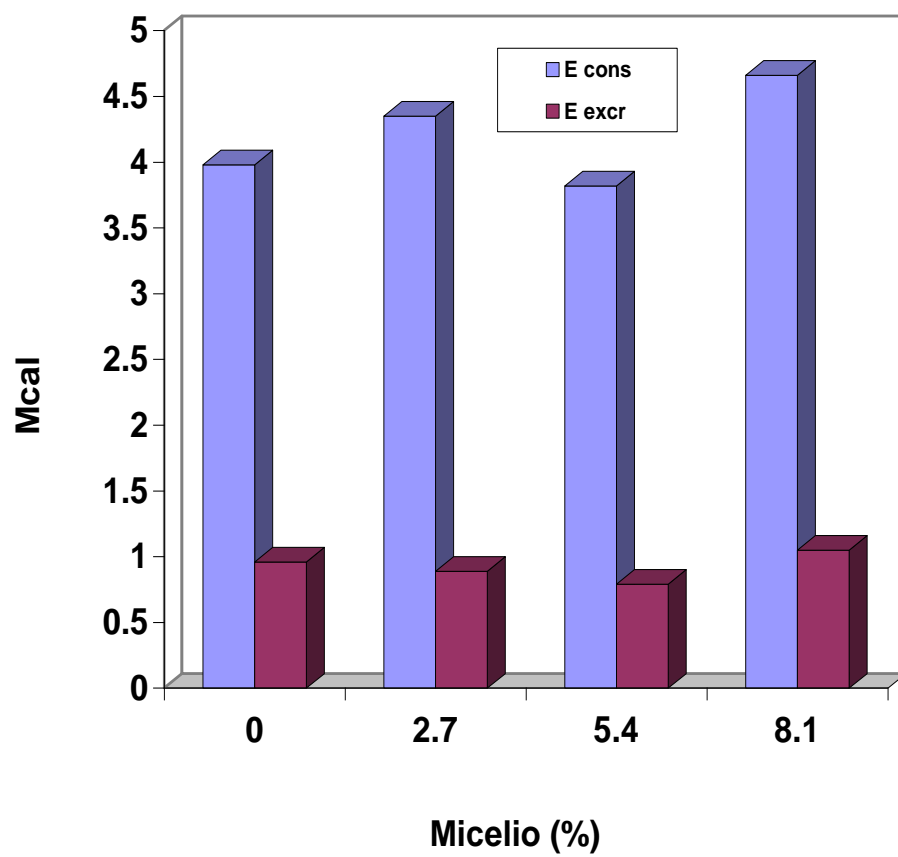


Figura 10. Influencia del nivel de micelio sobre la energía consumida y excretada en heces por los ovinos.

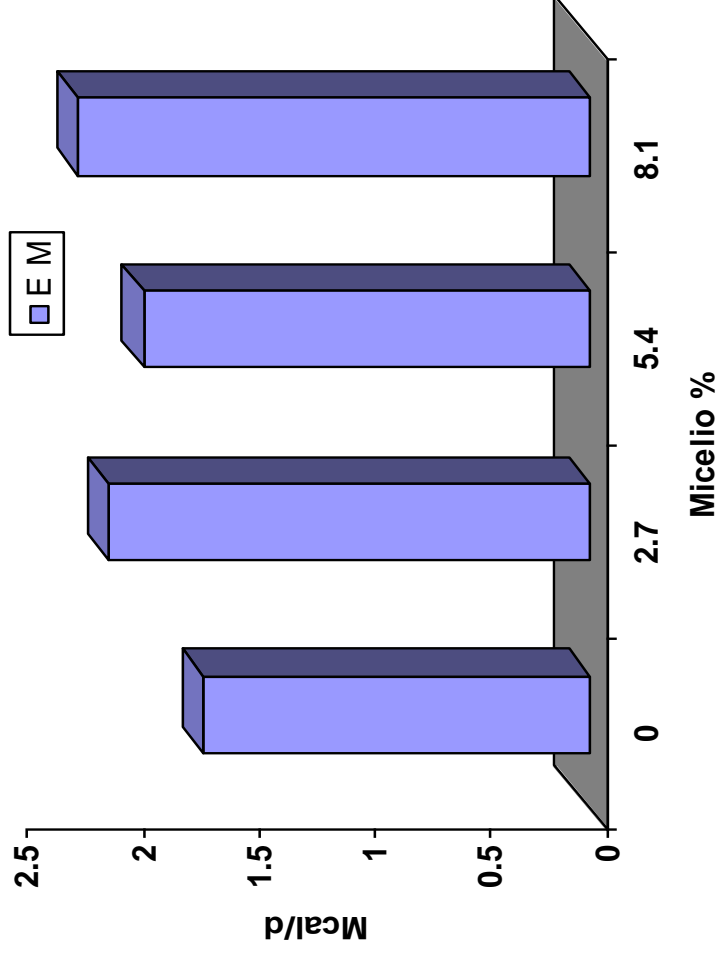


Figura 11. Influencia del nivel de micelio sobre la energía metabolizable en los ovinos en el estudio

CAPITULO V

DISCUSIÓN

5.1. Primer experimento (Desempeño en corral)

5.1.1. Consumo de MS, ganancia diaria de peso y conversión alimenticia

El efecto cuadrático ($P < 0.01$) observado con un incremento en el nivel de micelio en la ración de corderos de engorda, sugiere un estímulo del consumo de MS, con un bajo nivel de este subproducto (entre 2 y 3% de la ración seca). Sin embargo, niveles mayores de micelio, redujeron el consumo de MS, que puede estar relacionado con la palatabilidad de la ración. Doctor y Kerur (1968) y Pathak y Seshadri (1965) examinaron la utilización del desperdicio de antibióticos mediante su mezclado con pasta de cacahuete en alimento para animales, debido a la baja palatabilidad del micelio.

Aunque las levaduras no tienen micelios, son hongos microscópicos unicelulares con capacidad para fermentar hidratos de carbono produciendo distintas sustancias (Andrease y Stier, 1956). La suplementación de *S. cerevisiae* aumentó el CMS y la producción de vacas lecheras (Adams et al., 1995; Putnam et al., 1997; Wohlt et al., 1998), aunque un suplemento de *S. cerevisiae* no afectó ($P > 0.05$) el consumo de MS en corderos consumiendo raciones altas en grano (Kawas et al., 2007).

La ganancia diaria de peso de los corderos se redujo cuadráticamente, siguiendo la tendencia de los consumos de MS. Estas tendencias son opuestas

a las observadas con raciones altas en fibra, en las que el consumo aumenta y la ganancia de peso se reduce, al haber un menor contenido de energía en la dieta. Fimbres et al. (2002a) reportó un aumento en el consumo de MS y una reducción en la ganancia de peso, al incrementarse el nivel de fibra, bajar el nivel de grano, y consecuentemente, reducirse la densidad energética de la ración.

La conversión alimenticia fue afectada mas que la ganancia diaria de peso. La conversión alimenticia disminuyo linealmente al aumentar el nivel de micelio en la ración. La conversión alimenticia empeoró en mas del 20%, en la ración con el nivel de 8.1% de micelio. Debido a que hay menos energía disponible en raciones con micelio, se requiere mas alimento por unidad de peso incrementado.

5.1.2. Tamaños de órganos

De las variables de conformación, como altura a la cruz, longitud entre tuberosidades y circunferencia torácica de los corderos, no se observaron diferencias con la inclusión de micelio. En lo que se refiere al peso de órganos, los pesos del corazón y pulmones aumentaron con un mayor nivel de micelio en la ración. Este aumento en tamaño de órganos parece estar relacionado con el tamaño (peso al sacrificio) de los corderos, ya que el consumo y la ganancia de peso, también estuvieron relacionados de la misma manera (cuadráticamente), con el nivel de micelio en la ración. Aparentemente, estos órganos están mas

relacionados al tamaño del animal que al crecimiento y peso de los órganos viscerales (Fluharty y McClure., 1997).

5.1.3. Rendimiento y calidad de la canal

La inclusión de micelio en la ración no afectó el peso o rendimiento de la canal. La calidad de las canales no cambió significativamente con el nivel de micelio en la ración. Estos resultados son similares a los de Petit et al. (1997) y Fimbres et al. (2002a), quienes no encontraron un efecto de la ración en el rendimiento de la canal. Por otro lado, agregando un cultivo de levadura (*Saccharomyces cerevisiae*) no afectó el desempeño o las características de la canal de corderos consumiendo raciones de finalización (Kawas et al., 2007). Estos resultados también coinciden con aquellos de Fluharty y McClure (1997), quienes no encontraron diferencias en el peso y rendimiento de la canal.

5.2. Segundo experimento (Consumo y Digestibilidad)

5.2.1. Consumo y digestibilidad

Una de las limitantes del uso de hongos y otros organismos miceliales como alimento para animales es la digestibilidad (NRC, 1983). En este estudio, la digestibilidad tendió a reducirse de 58.9 a 54.1%, mientras que la digestibilidad de la FDN se redujo significativamente de 56.8 a 41.2%, conforme aumentó el nivel de micelio en la ración.

La digestión de la pared celular del micelio es difícil de desdoblar, ya que esta contiene una mezcla de polímeros que incluyen quitinas, β -glucanos,

lamarinas y péptidos, los cuales, muchos de ellos, tienen enlaces cruzados (NRC, 1983). Los β -glucanos, los galactanos y la pectina son solubles en una solución detergente neutro, por lo que no forman parte de la fibra en detergente neutro (NRC, 2007). Por esta razón, los β -glucanos no aparecen como parte de la FDN, ya que son solubles en este tipo de solución, y por lo tanto, la digestibilidad de la FDN solamente refleja parcialmente la menor digestibilidad de las raciones con micelio.

5.2.2. Balance y retención de nitrógeno

En este estudio, el consumo, la digestibilidad y la retención de N no cambiaron con la inclusión de micelio en las raciones. La inclusión de *S. cerevisiae* no afectó el consumo, excreción, balance de N o retención del N (Kawas et al., 2007). Fimbres et al. (2002b), en un estudio en el que se evaluó el efecto del nivel de forraje en la ración, concluyeron que a medida que aumentó el nivel de fibra en la ración de ovinos, el N retenido disminuyó, aunque fue mayor a medida que aumentó la densidad energética de las raciones, y la ganancia de peso de los corderos.

5.2.3. Producción de ácidos grasos volátiles y pH del rumen

El pH ruminal y la producción de AGV en el rumen no cambiaron al incluir micelio en la ración. Kawas et al. (2007) no observó cambio en el pH ruminal con la inclusión de un cultivo de levadura o bicarbonato de sodio, reportando un rango de pH de 5.83 a 6.21. Estos autores atribuyeron la falta de cambio en el

pH a que los corderos masticaron grano entero (50% del total de grano en la ración) que pudo haber contribuido a un aumento en la masticación y secreción de saliva, aumentando la capacidad amortiguadora (buffer) en el rumen. En el presente estudio, también se incluyó el 50% de grano entero, del total de grano en la ración.

5. Tercer Experimento (Utilización de la Energía)

En el estudio de desempeño, el menor consumo de MS fue aparentemente debido a una menor palatabilidad, al incluirse niveles de micelio mayores al 3%. En contraste con el estudio de desempeño, en la prueba de digestibilidad, no se observó una reducción del consumo de materia seca o energía. En el estudio de Fimbres et al. (2002b), conforme aumentó el nivel de fibra, al aumentar el heno y reducir el grano en la ración, el consumo de MS se incremento. Esto implica un mayor consumo de MS para satisfacer los requerimientos de energía, con raciones de baja densidad energética.

Existe una relación inversa entre contenido de fibra y densidad energética en la ración (NRC, 2007). Debido a que el micelio contiene β -glucanos y otros compuestos que forman parte de la fibra soluble en detergente neutro (FSDN), y al obtenerse una menor digestibilidad de la FDN en este estudio, pudiera parecer que el micelio contiene menos energía que la harina de soya, la fuente de proteína mas utilizada en la alimentación animal. Sin embargo, los componentes de la FSDN se fermentan completamente en el rumen (NRC, 2007), lo que parece permitir una mayor disponibilidad de energía. En esta

prueba, no se observó un cambio en el consumo de energía con un incremento en la inclusión de micelio en la ración.

CAPITULO VI

CONCLUSIONES

El micelio, un desperdicio de la manufactura de antibióticos generalmente se desecha, siendo un potencial contaminante del medio ambiente. Debido a su alto contenido de proteína cruda (mas de 70%), en vez de que cueste deshacerse de el, pudiera ser un subproducto de menor costo que la harina de soya, la fuente de proteína vegetal mas usada en la alimentación animal. En este estudio, un bajo nivel de micelio (menos de 3%) parece haber estimulado el consumo de MS, mientras que con niveles mayores, el consumo y la ganancia de peso se redujeron, y la eficiencia alimenticia empeoró. La eficiencia alimenticia se redujo mas de 20% con la inclusión de 8.1% de micelio en la ración. Considerando los datos obtenidos de este estudio, un bajo nivel de micelio, probablemente menor al 1% de la ración, pudiera estimular el consumo y la ganancia de peso, como se ha observado con los cultivos de levadura comerciales, considerados como Microbiales de Uso Directo (MUD), en la alimentación animal, sin afectar negativamente la eficiencia alimenticia.

RESUMEN

Francisco Javier Picón Rubio

Fecha de Graduación: Enero, 2009

Universidad Autónoma de Nuevo León
Facultad de Agronomía

Título del Estudio: EFECTO DE LA SUBSTITUCIÓN DE HARINA DE SOYA CON MICELIO DE *PENICILLIUM CHRYSOGENUM* EN LA RACIÓN DE CORDEROS, EN EL DESEMPEÑO, DIGESTIBILIDAD Y FERMENTACIÓN RUMINAL.

Número de páginas: 78

Candidato para el grado de Doctor en Ciencias Pecuarias con especialidad en Nutrición de Rumiantes

Área de estudio: rumiantes, ovinos

Propósito y Método del Estudio: El micelio de la manufacturación de penicilina u otros antibióticos, es un desecho industrial que contiene mas de 70% proteína cruda, en base seca. Sin residuos de antibióticos, dos limitaciones del uso del micelio en alimentos para animales son su digestibilidad, debido a una alta cantidad de β -glucanos y otros compuestos poliméricos, y su palatabilidad. En el presente estudio se realizaron tres experimentos con el objetivo de determinar el efecto del nivel de micelio en la ración de corderos, como fuente de proteína, en substitución de harina de soya, sobre el desempeño, digestibilidad, retención de nitrógeno, y fermentación ruminal, bajo la hipótesis de que no se afecten negativamente estas variables.

Contribuciones y Conclusiones: En el primer estudio, 32 corderos machos enteros, con peso aproximado de 20 kg, fueron distribuidos aleatoriamente en 4 dietas con 0, 2.7, 5.4 y 8.1% micelio. Conforme aumentó el nivel de micelio, se observó un efecto cuadrático ($P < 0.05$) en el consumo de alimento y la ganancia diaria de peso, y una peor ($P < 0.05$) eficiencia alimenticia. Características como peso y rendimiento o calidad de la canal, no fueron afectadas ($P > 0.05$) por el nivel de micelio. En un segundo estudio con 20 corderos, el nivel de micelio en la dieta no afectó ($P > 0.05$) el consumo o digestibilidad de la MS, tiempos de consumo o rumia, retención de nitrógeno, o pH y producción de AGV en el rumen. En el tercer estudio, muestras de alimento, heces y orina del segundo estudio, fueron usadas para determinar energía bruta con una bomba calorimétrica. Un aumento en el nivel de micelio no afectó ($P > 0.01$) la utilización de la energía consumida por los corderos.

FIRMA DEL ASESOR:

Dr. Jorge R. Kawas Garza _____